



EESTI MAAÜLIKOOL  
Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut

Anet Post

**TAIMSETE LISANDITE MÕJU SEALIHAST PIHVIDE  
KVALITEEDILE**

**EFFECT OF PLANT BASED ADDITIVES ON THE QUALITY OF PORK  
PATTIES**

Magistritöö  
Toiduainete tehnoloogia õppekava

Juhendajad: Kristi Kerner, *MSc*

Marek Tepper, *MSc*

Alo Tänavots, dr (pm)

Tartu 2021

Eesti Maaülikool		Magistritöö	
Kreutzwaldi 1, Tartu 51006			
Autor: Anet Post		Õppekava: Toiduainete tehnoloogia	
Pealkiri: Taimsete lisandite mõju sealihast pihvide kvaliteedile			
Lehekülgi: 83	Jooniseid: 31	Tabeleid: 7	Lisasid: 3
Õppetool: Toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetool			
ETIS-e teadusvaldkond ja CERC S-i kood: Toiduainete ja jookide tehnoloogia T430			
Juhendaja(d): Kristi Kerner, <i>MSc</i> ; Marek Tepper, <i>MSc</i> ; Alo Tänavots, dr (pm)			
Kaitsmiskoht ja -aasta: Tartu, 2021			
<p>Taimsed lisandid sisaldavad mitmeid kasulikke ühendeid, millest paljud on antioksidatiivsete omadustega. Kanepi (<i>Cannabis sativa</i> L.) kõrvalsaaduste ja hariliku lõhnheina (<i>Hierochloe odorata</i>) kui heade antioksidantide kasutamise kohta lihatoodetes on ilmunud vähe teaduskirjandust.</p> <p>Käesoleva magistritöö eesmärgiks oli uurida, milliseid taimseid lisandeid on kasutatud lihatoodetes, milliseid kvaliteedinäitajaid analüüsitud ning kuidas need on omakorda mõjutanud lõpptootte kvaliteeti.</p> <p>Käesolevas magistritöös võrreldi superkriitilise CO<sub>2</sub> ekstraktsioonimeetodiga rasvatustatud kanepiseemne, rasvatustamata kanepiseemnejahu ja hariliku lõhnheina ning kahe viimase segu lisandi mõju sealihast pihvi kvaliteedinäitajatele, sh rasva oksüdatsioonile.</p> <p>Töö eksperimentaalses osas valmistati valitud taimsete lisanditega katsed neljas korduses. Käesolevas magistritöös määrati kuumtöödeldud sealihast pihvide pH, vee aktiivsus, keemiline koostis, värvus, TBARS, grillimiskadu ning viidi läbi sensoorne analüüs kuumtöödeldud ja toorete pihvidega. Oksüdatsiooni kiirust hinnati rasvade oksüdatsioonil tiobarbituurhappega (TBARS) reageerivate ainete hulga alusel.</p> <p>Magistritöö tulemusena selgus, et rasvatustamata kanep ja harilik lõhnhein suurendavad pihvides niiskusesisaldust. Kanepi toorproteiin ning toorproteiini ja lõhnheina ekstraktidega</p>			

pihvid andsid stabiilsemaid vee aktiivsuse tulemusi, millest võib järeldada, et toorproteiin parandab vee aktiivsuse omadusi pihvis. Kogu katse vältel olid madalaima rasva oksüdatsiooniga hariliku lõhnheina pihvid ja ka toorproteiini ja lõhnheina, mis tähendab, et taimsed ekstraktid toimisid heade antioksidantidena.

Madalaima grillimiskaoga oli rasvastatud kanepiseemne lisandiga pihvid (18,46%) võrreldes kontrollprooviga (24,37%), mida saab seletada kõrge proteiinisaldusega, mis absorbeerib toorainest tugevasti vett.

Parimaid värvuse ja välimuse tulemusi andis sensoorsel hindamisel kontrollproov. Maitse ja lõhna omaduste poolest meeldis hindajatele enim rasvatustatud kanepiseemne lisandiga pihvid. Hariliku lõhnheina pihvid välimuse ja maitse poolest ei meeldinud, tema mõru maitse ja ebatüüpilise rohelise värvuse tõttu. Hariliku lõhnheina lisandiga pihv näitas ajas paremaid mahlakuse omadusi, mida võib seostada sellega, et lõhnheina lisand aitab pihvis olevat niiskust paremini siduda.

Märksõnad: liha kvaliteet, oksüdatsioon, antioksidandid, hariliku lõhnheina ekstrakt, kanepiseemne lisandid

Estonian University of Life Sciences Kreutzwaldi 1, Tartu 51006		Abstract of Master's Thesis	
Author: Anet Post		Curriculum: Food Technology	
Title: Effect of plant based additives on the quality of pork patties			
Pages: 83	Figures: 31	Tables: 7	Appendixes: 3
Chair: Chair of Food Science and Technology Field of research and (CERC S) code: Food and beverage technology T430 Supervisors: Kristi Kerner, <i>MSc</i> ; Marek Tepper, <i>MSc</i> ; Alo Tänavots, <i>DSc</i> (Agr) Place and date: Tartu, 2021			
<p>Plant based materials contain many useful compounds and have antioxidant properties. There is few scientific literature on the use of hemp (<i>Cannabis sativa</i> L.) and hemp by-products or sweet grass (<i>Hierochloe odorata</i>) as good antioxidants in meat products.</p> <p>The aim of the master's thesis was to study which plant based additives have been used in meat products, which quality indicators have been analyzed and how they have affected the quality of the final product.</p> <p>Defatted hemp, raw hemp, sweet grass and the mixture of raw hemp and sweet grass extract effect on the quality parameters of pork patties and fat oxidation was investigated.</p> <p>Experiments with selected plant additives were prepared in four replicates. The tests on pH, water activity, chemical composition, color, TBARS, grilling loss of grilled pork patties and sensory analysis were performed with grilled and raw patties. The rate of fat oxidation was assessed by the amount of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in the oxidation of fats.</p> <p>As a result, it has been found that raw hemp seed flour and sweet grass extract increase the moisture content of patties. The raw hemp and mixture of raw hemp and sweet grass extracts gave more stable water activity results, from which it can be concluded that the raw protein improves the water activity properties of the patties. Throughout the experiment, the lowest</p>			

oxidation level was found on patties with sweet grass extract, as well as on patties in combination with raw hemp and sweet grass extract meaning that these plant additives acted as good antioxidants. Patties with sweet grass extract showed better juiciness over time, which can be attributed to the fact that the sweet grass helps to better bind the moisture in the patties.

The lowest grilling loss was in patties with defatted hemp seed flour (18.46%) compared to the control sample (24.37%), which can be explained by the high protein content of defatted hemp seed flour, which strongly absorbs water from the raw material.

The best color and appearance results were obtained with the control sample. The best taste and aroma was patties with the addition of defatted hemp seed. Sweet grass patties did not like in appearance and taste, due to its bitter taste and atypical green color. Patties with sweet grass extract showed better juiciness over time, which can be attributed to the fact that the sweet grass helps to better bind the moisture in the patties.

Keywords: meat quality, oxidation, antioxidants, sweetgrass extract, hemp seed additives

# SISUKORD

LÜHENDID .....	8
SISSEJUHATUS .....	10
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE.....	12
1.1 Liha tarbimine .....	12
1.2. Liha töötlemisel toimuvad reaktsioonid .....	14
1.3. Liha mõju organismile ja ainevahetusele .....	15
1.3.1. Kantserogeenid ning tervist kahjustavad ühendid .....	16
1.4. Oksüdatsioon lihas ja antioksidandid .....	16
1.5. Liha keemiline koostis.....	20
1.5.1. Lihaskoe valgud.....	20
1.5.2. Rasvad .....	21
1.6. Liha füüsikalised näitajad.....	21
1.6.1. pH .....	21
1.6.2. Värvus.....	23
1.6.3. Veesidumisvõime .....	23
1.6.4. Kuumtöötlemise mõju lihale .....	24
1.7. Taimsete lisandite kasutamine lihatoodetes .....	24
1.7.1. Kanep ja kanepisaadused.....	28
1.7.2. Harilik lõhnhein.....	29
1.8. Eestis läbiviidud uuringud .....	30
2. MATERJAL JA METOODIKA.....	32
2.1. Füüsikaliste-keemiliste näitajate määramine .....	34
2.1.1. Niiskusesisaldus .....	34
2.1.2. Valgusisaldus.....	35
2.1.3. Tuhasisaldus .....	35
2.1.4. Rasvasisaldus.....	36
2.1.5. pH-väärtus .....	36
2.1.6. Vee aktiivsus .....	37

2.1.7. Grillimiskadu .....	38
2.1.8. Värvus.....	39
2.1.9. Oksüdatsiooniastme määramine .....	40
2.2. Sensorne analüüs .....	40
2.3. Statistiline analüüs .....	41
3. TULEMUSED JA JÄRELDUSED .....	42
3.1. Pihvide keemiline koostis.....	42
3.2. Grillimiskadu .....	46
3.3. Värvus.....	48
3.4. Vee aktiivsus .....	51
3.5. pH .....	53
3.6. Oksüdatsiooniaste.....	58
3.7 Sensorse analüüsi tulemused .....	63
3.7.1 Grillitud pihvide sensorse analüüsi tulemused .....	63
3.7.2. Toorete pihvide sensorse analüüsi tulemused .....	65
JÄRELDUSED JA ETTEPANEKUD .....	67
KASUTATUD KIRJANDUS .....	71
LISAD .....	76
Lisa 1. Taimsete lisanditega sealihast pihvide degusteerimise protokoll.....	77
Lisa 2. Sensorisel hindamisel saadud tulemuste päevapõhised radardiagrammid .....	79
Lisa 3. Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendajate kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta .....	82

## LÜHENDID

Cu – vask

BHA – butüül hüdroksüanisool

BHT – butüülitud hüdroksütolueen

DFD – tume, tihke, kuiv liha (*dark, firm, dry*, ingl k)

DH – ekstraktsioonimeetodiga rasvatustatud kanepiseemne jahu (*defatted hemp*, ingl k)

DPPH – 2,2-difenüül-1-pikrüülhüdrasüül

GAE – gallushappe ekvivalendid (*gallic acid equivalent*, ingl k)

EFSA – Euroopa Toiduohutusamet (*European Food Safety Authority*, ingl k)

Fe – raud

IARC – Rahvusvaheline Vähiuuringute Agentuur (*International Agency for Research on Cancer*, ingl k)

LDV – lipiididest tulenevad lenduvad ühendid, (*lipid-derived volatiles*, ingl k)

MDA – maloondihaldehüüd

Mn – mangaan

PG – propüüllgallaat

PSE – hele, pehme, vesine liha (*pale, soft, exudative*, ingl k)

PV – peroksiidi väärtus, (*peroxide value*, ingl k)

PUFA – polüküllastumata rasvhape

RCO – vähenenud värvuse oksüdatsioon (*reduced color oxidation*, ingl k)



RH – rasvatustamata kanepiseemne jahu ehk kanepi toorproteiin (*raw hemp*, ingl k)

RH+SG – rasvatustamata kanepiseemne jahu ehk toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu (*raw hemp + sweetgrass extract*, ingl k)

RLO – vähenenud lipiidide oksüdatsioon (*reduced lipid oxidation*, ingl k)

RLPO – vähenenud lipiidide ja valkude oksüdatsioon, (*reduced lipid and protein oxidation*, ingl k)

RPO – vähenenud valgu oksüdatsioon, (*reduced protein oxidation (carbonyls)*, ingl k)

RRO – vähenenud sensoorne lagunemine, (*reduced sensorial degradation*, ingl k)

SG – hariliku lõhnheina (*Hierochloe odorata*) ekstrakt (*sweet grass*, ingl k)

TBARS – tiobarbituurhappega reageerivate ainete väärtus, (*thiobarbituric acid reactive substances*, ingl k.)

TBHQ – tert-butüülhüdrokinoon, (*tert-butylhydroquinone*, ingl k)

WHC – veesidumisvõime (*water holding capacity*, ingl k)

## SISSEJUHATUS

Käesolevas töös antakse ülevaade liha, kui toiduaine tarbimisest ja populaarsusest, töötlemisest, oksüdatsiooniprotsessist, liha mõjust organismile ja ainevahetusele ning võimalikust kantserogeensusest. Lisaks sellele antakse ülevaade läbiviidud uuringutest ja tulemustest seoses taimsete ekstraktide ja lisandite mõjust liha ja lihatoodete kvaliteedile ning oksüdatsioonile. Töö teises pooles selgitatakse katsete metoodikat ja esitatakse saadud tulemusi ning nende põhjal tehtud järeldusi.

Liha ja lihatooted on inimese toidulaua põhiosa. Valgu- ja vitamiinisisaldus ning asendamatud rasvhapped muudavad liha väärtuslikuks toiduaineks. Liha on vastuvõtlik mikroobidele ja oksüdatiivsetele protsessidele, mis mõjutavad lipiide, pigmenti, valke ja vitamiine. Reaktsioonide käigus toimub toote sensoorne lagunemine. Lisaks esineb toitainete kadu, mis põhjustab mürgiste ainete moodustumist, seega on oksüdatsiooniprotsesside kontroll lihatööstuse jaoks ülioluline. Vaatamata sellele, et lipiidide oksüdeerumist on aastakümneid laialdaselt uuritud, teevad protsessis osalevad keerukad reaktsioonid selle raskeks. (Dominguez *et al.* 2019)

Viimaste aastate uuringud on näidanud, et marjade ja taimsete kõrvalsaaduste abil on võimalik pidurdada lihas ja lihatoodetes oksüdatiivseid protsesse, kuna marjad sisaldavad antioksidante. Taimede lehed, juured, seemned, koor, õli ja viljaliha sisaldavad rohkesti fenoolseid ühendeid, mis on võimelised toimima vesiniku doonorite või antioksidantset aktiivsust avaldavate radikaalide eemaldajatena (Cunha *et al.* 2018 ). Antioksidante kasutatakse liha ja lihatoodete oksüdatiivsete muutuste vähendamiseks. Oksüdatiivsetel muutustel võib olla negatiivne mõju liha ja lihatoodete kvaliteedile, põhjustades muutusi nende organoleptilistes omadustes ja toiteväärtuses. (Shah *et al.* 2014)

Seni on Eestis uuritud peamiselt rabarberi, astelpaju ja tomati mõju lihatoodete kvaliteedile ja mikrobioloogiale, mis on andnud positiivseid tulemusi. (Anton *et al.* 2019)

Lähtuvalt eelnevatest uuringutest valiti töös kasutatavateks taimseteks lisanditeks superkriitilise CO<sub>2</sub> ekstraktsioonimeetodiga rasvatustatud kanepiseemne (*Cannabis sativa* L.) jahu, rasvatustamata kanepiseemne jahu, harilik lõhnhein (*Hierochloe odorata*) ning kahe viimase lisandi segu.

Magistritöö eesmärk on nii teaduskirjanduse kui eksperimentaalse töö alusel anda ülevaade, milliseid taimseid lisandeid on kasutatud lihatoodetes, milliseid kvaliteedinäitajaid analüüsitud ning milliseid tulemusi selle käigus on saadud.

Käesoleva magistritöö hüpoteesid:

1. mehaaniliselt pressitud ja kuivatatud kanepiseemnejahu koostisosadel võib olla negatiivne mõju lihatoodete kvaliteedile seoses küllastumata kanepiõli jääkide oksüdeerumise tõttu, samas kui õlijääkide eemaldamisel superkriitilise CO<sub>2</sub> ekstraheerimisega peaks kõrvaldama oksüdatsiooniga seotud negatiivsed mõjud;
2. tugev looduslik antioksüdant hariliku lõhnheina ekstrakti näol pidurdab lihatoodete oksüdatsiooniprotsesse ning koostoimel rasvatustamata kanepiseemne jahuga leevendab viimase negatiivset toimet oksüdatsioonile.

Antud töös teostati neli katsepartiit, kus analüüsiti pihvide keemilist koostist, värvust, pH-d, vee aktiivsust, oksüdatsiooni ning teostati toorete ja kuumtöödeldud sealihast pihvide sensoorne analüüs.

Magistritöö autor soovib tänada Eesti Maaülikooli veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituudi toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetooli õppejõude, kes olid nõus osa võtma sensoorsest hindamisest. Samuti soovitakse tänada töö juhendajaid Kristi Kernerit ja Alo Tänavotsa ning Marek Tepperit, kes olid alati olemas ja valmis aitama. Lisaks tänatakse Leno Mätast, kes oli abiks katsete teostamisel. Samuti tänatakse käesoleva töö retsensenti Sille Villemit.

# 1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

## 1.1 Liha tarbimine

Liha varustab organismi eluks vajalike toitainetega. Lihavalgud on bioloogiliselt kõrgväärtuslikud, kuna nende aminohappeline koostis on inimorganismi valkudele väga sarnane. Lihast saadavad mikroelemendid on vajalikud vereloomeks ja organismi kaitsesüsteemi funktsioneerimiseks (Zilmer k.p). Lihast leiduvate vitamiinide A, D, E (rasvlahustuvad) kogus lihas sõltub rasvasisaldusest. (Rei 1999)

Inimesi vaevavad paljud terviseprobleemid nagu südamehaigused, diabeet ja mitmesugused vähivormid. Esmased riskitegurid on tubaka ja alkoholi tarvitamine, kehaline passiivsus ja rasvumine, mida suurendavad stress, istuv eluviis ja muutused traditsioonilises toidutarbimises. (Barron *et al.* 2020)

Liha, eriti punane ja töödeldud, on sattunud kriitika alla ja väidetavalt muutunud ebatervislikuks seoses haiguste tekitamise riskiga (südameveresoonkonna haigused, vähk, rasvumine, II tüüpi diabeet) ning seetõttu on muutunud see ebapopulaarseks ja peetakse ebatervislikuks. Lihast on suhteliselt kõrge rasvasisaldus (küllastunud rasv) ning liha töötlemise käigus lisatakse sünteetilisi antioksüdante ja antimikroobseid aineid. Sünteetilisi antioksüdante (butüülhüdrosüüanisool (BHA), butüülitud hüdroksütolueen (BHT), tert-butüülhüdrokinoon (TBHQ), ja propüülgallaat (PG)) soovitakse tarbijate nõudmisel asendada looduslike antioksüdantidega. (Kumar 2015)

Liha ja lihatooted omavad olulist rolli inimeste toidulauas kui tähtsad valkude, vitamiinide ning mineraalainete, eriti raua, allikad. Liha ja sellest valmistatud toodete kuumtöötlemise ajal moodustub mitmesuguseid kantserogeenseid ühendeid. Toodete parema kvaliteedi ja ohutuse

tagamiseks tuleb kasutusele võtta erinevad meetodikaid. Inimeste kasvav mure ja teadlikkus toitumise ja tervise osas on viinud tervislikumate toiduainete väljatöötamiseni. Taimsete derivaatide lisamine toodetesse vähendab mitmete degeneratiivsete haiguste riski. Tarbijate suhtumise muutmiseks tuleks liha töötlemisel lisada taimset päritolu lisaaineid ja lisandeid. Sünteetiliste lisaaainete kasutamine toitudes on tekitanud tarbijates nõudluse looduslike lisaainetega toodete järele. Selleks, et parandada tarbijate suhtumist liha tarbimisse on lihatööstused üha enam kasutusele võtnud taimset päritolu toiduaineid/lisaaineid loomse rasva asendajatena. Proovitud on lisada mitte-lihalisi koostisosi loomse rasva asendajatena, looduslikke antioksüdante ja antimikroobe, mis pärinevad taimsetest allikatest. (Hygreeva *et al.* 2014)

Värskel- ja töödeldud lihale ning sellest valmistatud toodetele lisatakse antioksüdante, mis aitavad vältida lipiidide oksüdeerumist, samuti aeglustavad antioksüdandid maitse muutumist lihas ning aitavad hoida liha välimust ja tekstuuri. Antioksüdante jagatakse toiduainetööstuses sünteetilisteks ja looduslikeks. Sünteetiliste antioksüdantide toksiline ja kantserogeenne mõju on tõestatud, mis paneb toiduainetööstusi rohkem kasutama looduslikest allikatest pärit antioksüdante. (Kumar *et al.* 2015). Ka Euroopa Toiduohutusamet (EFSA) on tunnistanud sünteetiliste antioksüdantide võimalikku kahjulikku mõju inimeste tervisele ja hoiatab nende tarbimise eest. (Cunha *et al.* 2018)

Liha kuulub enamike inimeste igapäeva menüüsse. Üle-eelmise aasta andmete kohaselt söödi Eestis keskmiselt 80 kg liha inimese kohta aastas. Üldine liha tarbimine Eestis on vähenenud 2019 aastaga võrreldes 7%. Enim tarbiti sealiha 55,1 t ehk 41,6 kg ühe inimese kohta aastas ja 26,8 kg linnuliha. Samuti on tõusnud veiseliha tarbimine, 2019. aastal söödi veiseliha 9,7 kg ühe inimese kohta. Elanikkonna poolt 2019. aastal tarbitud lihast toodeti 67% Eestis. Enim on tarbitavast lihast Eesti päritoluga veiseliha, mida imporditakse kõige vähem. Kehvemas seisus on linnuliha, kus enamik tarbitavast linnulihast on importliha (Soomest, Leedust ja Taanist ) (Stat 2019).

Aastane lihatoodang võrreldes kümne aasta taguse ajaga on langenud (tabel 1).

**Tabel 1.** Eesti aastane lihatoodang (tuhat tonni) (Stat 2020)

	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
<b>Liha</b>	80,6	78,4	79,84	80,72	83,15	77,9	71,49	74,38	76,3
<b>Veiseliha</b>	12,19	12,28	11,48	11,89	12,63	14,78	12,03	12,48	11,43
<b>Sealiha</b>	50,23	48,83	49,49	48	50,11	42,73	38,39	41,95	43,88
<b>Lamba- ja kitseliha</b>	0,62	0,73	0,71	0,64	0,64	0,67	0,6	0,64	0,71
<b>Kodulinnuliha</b>	17,53	16,53	18,12	19,45	19,74	19,7	20,43	19,27	20,29
<b>Muu liha</b>	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	-

Aastal 2015 toodeti 83,15 t liha siis juba 2017 aastaks oli see langenud 71,49 t aastas. Sealiha tootmine on vähenenud kõige enam, 2015 toodeti sealiha aastas 50,11 t ning 2019 aastal 43,88 t. Tootmise kasvu näitab enim kodulinnuliha. Aastal 2011 toodeti 17,3 t linnuliha ja 2019 aastal 20,29 t. Kitse- ja lambaliha tootmine on viimastel aastatel samuti tõusutrendis. 2017 aastal toodeti kitse- ja lambaliha 600 kg aastas, kuid aastaks 2019 oli sama näitaja 710 kg. (Stat 2020)

## 1.2. Liha töötlemisel toimuvad reaktsioonid

Liha säilitamisel ja töötlemisel toimuvad mitmesugused (bio)keemilised ja mikrobioloogilised reaktsioonid (Tamanna *et al.* 2015). Liha riknemist on võimalik hoida kontrolli all sünteetiliste säilitusainetega. Nagu eelpool mainitud, siis tänapäeva tarbijate eelistused on seotud võimalikult naturaalse toodetega. Seetõttu proovitakse leida alternatiivseid antioksüdante ja antimikroobseid aineid vürtsidest, puuviljadest, köögiviljadest ning õliseemnetest. (Jiménez-Colmenero *et al.* 2018)

Kuumtöötlemine hävitab mikroorganismid ning põhjustab muutuseid struktuuris ja koostises aidates kaasa spetsiifiliste sensoorsete omaduste tekkele (tekstuur, maitse ja värvus) muutes tooted tarbijatele maitsvamaks ja isuäratavamaks. Kodusel liha käitlemisel tehakse

mitmesuguseid vigu (kõrgel temperatuuri kuumtöötlemine, vale säilitamise temperatuur), mis võib muuta liha tehnoloogilisi ja biokeemilisi omadusi. (Tamanna *et al.* 2015).

Toidu kuumutamisel kõrgel temperatuuril toimub keemiline reaktsioon redutseerivate suhkrute ja aminohapete vahel, antud reaktsiooni nimetatakse *Maillard*i reaktsiooniks. Selle käigus toidu pind pruunistub ning moodustub koorik, muutub toote maitse ja tekib iseloomulik lõhn, mis on omane küpsele leivale, lihale või kalale. *Maillard*i reaktsioon toimub 140–165 °C juures (Tamanna *et al.* 2015). Lihas toimub *Maillard*i reaktsioon küpsetamisel, grillimisel, praadimisel või röstimisel. Reaktsiooni mõjutab liha liik, pH, kuumtöötlemise tingimused ja lisaks sööda koostis, millega looma on eelnevalt söödetud. (Starowicz *et al.* 2019)

### **1.3. Liha mõju organismile ja ainevahetusele**

Liha varustab inimorganismi erinevate toitainetega, mida on vaja organismi funktsioneerimiseks ja kasvuks. Liha ja sellest valmistatud tooted on kehale vajalike ühendite allikaks (valk, linoolhape, mineraalained nagu näiteks raud, tsink, seleen ja kreatiin). Selles leiduvad küllastunud rasvhapped ja kolesterool on üheks peamiseks põhjuseks, miks liha on muutunud inimeste poolt taunitavaks. Seedetrakt puutub pidevalt kokku toidust pärit ja seedimise käigus saadud oksüdeerunud ühenditega, osa neist imendub otse vereringesse. Mao seedimisreaktsioonide lagunemissaadustena võivad tekkida toksilisi ühendeid. (Lorenzo *et al.* 2018)

Täheldatud on, et kantserogeensed ained põhjustavad Alzheimeri tõbe, kroonilist neerupuudulikkust, diabeeti ning mutageensust põhjustavaid haigusi. Lisaks on leitud, et rasvased toidud, mis sisaldavad hulgaliselt oksüdatsiooniprodukte, kahjustavad veresoonte funktsioone ja soodustavad põletikulisi protsesse. (Lorenzo *et al.* 2018)

### 1.3.1. Kantserogeenid ning tervist kahjustavad ühendid

Cheasley *et al.* (2017) uuringu kohaselt mõjutab inimeste riski haigestuda vähkkasvajasse nende elustiil, elukoht ja haridustase. Maal elavatel inimestel on parem ligipääs värsele toidule kui linnas elavatel.

Rahvusvaheline Vähiuuringute Agentuur (IARC) kinnitas fakti, et töödeldud liha põhjustab (rühm 2A) vähki. Lisaks liha ja sellest valmistatud tooted, eriti hakkliha on väga soodne keskkond mikroobidele, mis kutsuvad esile riknemise ja vähendab kõlblikkusaega ning suurendab toidust põhjustatud haigusi. Burgeripihvid on väga lühikese kõlblikkusajaga ehk kiiresti riknevad tooted. (WHO 2015)

Reddy (2018) uuris praetud lihast leitud mutageenide metabolismi loomkatsete abil. Mutageene ja kantserogeene võivad toidus tekitada *Maillard* reaktsioonid. Leiti, et antud kantserogeenid, mis tekivad pruunistamise käigus, moodustuvad nitritite ja asendatud sekundaarsete amiinide või amiidide reageerimisel. Uuringud on näidanud, et kantserogeenide teket võivad blokeerida C- või E-vitamiin.

### 1.4. Oksüdatsioon lihas ja antioksidandid

Lihatoodetes mõjutab oksüdatsiooniprotsess lipiide, valke, lihapigmenti ja pH-d, mille tulemuseks on värvi, maitse, tekstuuri ja toiteväärtuse halvenemine (Lorenzo *et al.* 2018). Oksüdatsiooniprotsessi käigus moodustuvad erinevad primaarsed ja sekundaarsed kõrvalsaadused sõltuvalt rasvhapete tüübist, hapniku kättesaadavusest ning pro- ja antioksidantide olemasolust. Mõned lipiidide oksüdeerumise produktid mõjutavad ainult liha kvaliteeti, teised aga haiguste tekitajaid ja inimeste tervisega seotud probleeme. Seetõttu on liha lipiidide oksüdatsiooni vältimine oluline liha kvaliteedi ja inimeste tervise seisukohalt (Huang *et al.* 2019). Kaudselt mõjutavad oksüdatsiooni sellised tegurid nagu lihaste tüüp ja



anatomiline paiknemine, loomaliik, tõug, pidamisviis või loomade toitumine, kuna antud tegurid muudavad oluliselt liha koostist (Dominguez *et al.* 2019).

Lipiidide oksüdatsioon on kompleksne protsess, sõltudes liha keemilisest koostisest, valgusest, hapniku juurdepääsust ja säilitustemperatuurist. Seda mõjutavad ka mõningad tehnoloogilised protsessid (Shah 2014). Küllastumata rasvhapped ja hapnik reageerivad lipiidide oksüdatsiooniprotsessi käigus (Dominguez *et al.* 2019). Polüküllastumata rasvhapped (PUFA-d) läbivad autooksideerumise ja tekitavad rakkudes toksilisi reaktiivseid karbonüülühendeid, mis on seotud apoptootilise rakusurma, vanusega seotud neurodegeneratiivsete haiguste ja ateroskleroosiga (Hill *et al.* 2012). Lipiide saab oksüdeerida kolmel põhilisel viisil, mis hõlmavad reaktsioone: autooksideatsioon, ensümaatilisel katalüüsitud oksüdeerumine ja fotooksideatsioon. Kolme mehhanismi seas on lihas kõige olulisem lipiidide oksüdeerumise protsess autooksideatsioon, mis on pidev vabade radikaalide ahelreaktsioon. (Dominguez *et al.* 2019)

Valkude oksüdatsioon kutsub esile mitmeid füüsikalisi-keemilisi muutusi ning langeb ka lihavalgude väärtus, sealhulgas liha biosaadavuse vähenemine, aminohapete koostise muutus. Lisaks on uuringud näidanud olulisi muutusi liha geelistumisel, emulgeerumisel ja lahustumisel (Lorenzo *et al.* 2018).

Lisaks kõigile mainitud prooksideantsetele teguritele on olemas ka antioksideandid, mis kaitsevad liha vabade radikaalide või lipiidide oksüdeerumist soodustavate katalüsaatorite toime eest. Need endogeensed ühendid võib jagada kolme põhirühma: vitamiinid, peptiidid ja ensüümid. Nende antioksideantide toimemehhanism on peamiselt tingitud nende võimest neutraliseerida oksüdatsiooniprotsessi katalüüsivaid radikaale (nii reaktiivseid hapnikuühendeid kui ka hüdroperoksiid radikaale) (Dominguez *et al.* 2019). Antioksideandid jagunevad kahte rühma: 1) primaarsed antioksideandid, mis reageerivad otseselt lipiidradikaalidega ja muudavad need suhteliselt stabiilseteks produktideks; neid nimetatakse ka ahela purustavateks antioksideatiivseteks ühenditeks; 2) sekundaarsed antioksideandid, mis võivad erineva toimemehhanismi abil vähendada oksüdatsiooni kiirust. Sekundaarsed antioksideandid võivad toimida metalliioonide ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  ja  $\text{Cu}^{2+}$ ) sidumisega, mis on võimelised katalüüsima oksüdatiivseid protsesse. Mõned looduslikud fenoolsed ühendid toimivad nii esmaste kui ka sekundaarsete antioksideantidena. Looduslikud antioksideandid omavad suuremat potentsiaali

lihatööstuses, kuna tarbijad on sünteetiliste antioksüdantide poolt tekitavate haiguste ja kahjulike toimete suhtes vastuvõtlikumad (Kumar *et al.* 2015). Antioksüdandid koosnevad peamiselt hüdrofiilsetest ühenditest nagu askorbiinhape ja poolpolaarsed antotsüaniinid ning flavoon-3-oolid (rutiin), mis kõik on head antioksüdandid ja hõlpsasti ekstraheeritavad. (Raudsepp *et al.* 2019)

Antioksüdante kasutatakse liha ja lihatoodete oksüdatiivsete muutuste minimeerimiseks. Oksüdatiivsetel muutustel võib olla negatiivne mõju liha ja lihatoodete kvaliteedile põhjustades muutusi nende organoleptilistes omadustes ja toiteväärtuses (Shah *et al.* 2014). Viimastel aastatel on hakatud katseid tegema erinevate taimeekstraktidega (ürdid, vürtsid ja antioksüdantse toimega eeterlikud õlid). Looduslike antioksüdante võib leida mistahes taimeosades: terad, viljad, pähklid, seemned, lehed, juured (Kumar *et al.* 2015). Taimsed ekstraktid on valmistatud erinevate lahustite ja ekstraheerimise meetodite abil. Sarnaseid antioksüdantseid omadusi sünteetiliste antioksüdantidega on leitud viinamarjaseemnetel, rohelisel teel, männikoorel, rosmariinil, granaatõunal, nõgesel ja kaneelil (Shah *et al.* 2014). Enamikes looduslikes antioksüdantides leidub fenoolseid ühendeid, millest olulistemaks võib pidada tokoferoole, flavonoide ja fenoolhappeid. Neid lisatakse mitmesugustesse toitudesse ennetamaks või aeglustamaks lipiidide oksüdatsiooni. Looduslike antioksüdantide negatiivseks küljeks on termiline lagunemine, kuna looduslikest allikatest pärinevad antioksüdandid pole niivõrd vastupidavad kuumtöötlemisele nagu sünteetilised. Erinevad töötlemise etapid võivad mõjutada liha kvaliteeti nii positiivselt kui ka negatiivselt (Lorenzo *et al.* 2018).

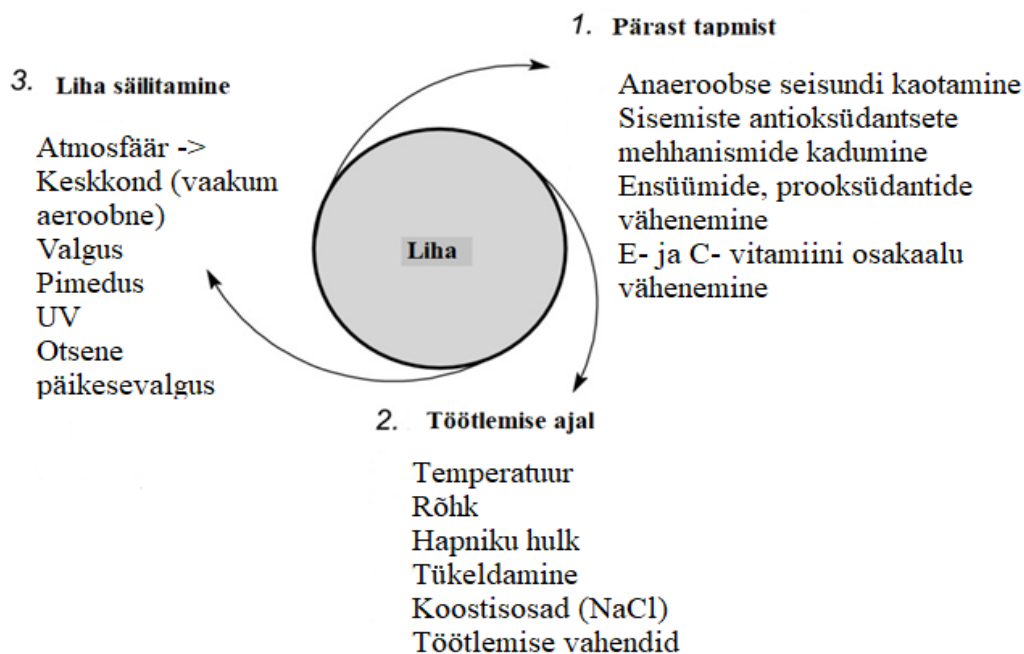
Oksüdatsiooni lihas hinnatakse tavaliselt protsessi käigus tekkiva peroksiidi väärtuse (PV), tiobarbituurhappega reageerivate ainete (TBARS), sulfüürüül- ja karbonüülrühma koguse mõõtmise teel. (Lorenzo *et al.* 2018)

Rääsumise probleemid esinevad toodetes, mis sisaldavad küllastumata rasvhappeid. Üks lipiidide laguproduktidest on maloondialdehüüd (MDA), mida kirjeldatakse kui väga toksilist ainet. Sellepärast on oluline kontrollida selle taset, mitte ainult sensoorsest või tehnoloogilisest vaatenurgast, vaid just tarbijate tervise tõttu. (Zajac 2019)

Joonisel 1 on näidatud liha oksüdatiivsust mõjutavaid tegureid pärast looma tapmist. Esimeses etapis ehk pärast tapmist hakkab sisemiste antioksüdantsete ensüümide langus nagu ka

müoglobiini-, hemoglobiini sisalduse ning E- ja C-vitamiini osakaalu vähenemine. Suured muutused leiavad aset töötlemise ajal, mida peamiselt mõjutavad töötlemise temperatuur, rõhk, lisatud koostisosad ning töötlemismeetodid, millega viiakse läbi tükeldamise protsessid ja toimub edasine töötlus. Lisaks on oluline roll säilitamisel pakendamise keskkond (vaakum või aeroobne) ning millistes tingimustest liha hoitakse. (Lorenzo *et al.* 2018)

Lipiidide oksüdeerumine võib toimuda kolmes etapis: tapmise ajal (eluslihas), tapmise ajal (lihaste lihaks muutmine) ja pärast tapmist (töötlemine ja ladustamine). (Kumar 2015)



**Joonis 1.** Lipiidide oksüdeerumine (Kumar *et al.* 2015)

Lihaskudede oksüdatsioonireaktsiooni on võimalik reguleerida sisemiste teguritega, näiteks ensüümid, teatud valgud ja nende mehhanismid (transpordivalgud) või oksüdatiivsed reaktsioone rikuvad antioksidandid (E- ja C-vitamiin). Pärast tapmist kaotavad need faktorid

oma antioksüdatiivse potentsiaali mitmesuguste tapmisjärgsete tingimuste, näiteks anaeroobse keskkonna, proooksüdantide (P0) olemasolu ja ensümaatiliste antioksüdatiivsete mehhanismide puudumise tõttu. Hemoglobiin ja müoglobiin on samuti proooksüdandid. (Kumar 2015)

## **1.5. Liha keemiline koostis**

Lihaskoe sisaldab keskmiselt 75% vett, 20% valku, 3% rasva ning 2% lahustuvaid mittevalgulisi aineid. Viimasest 2%-st moodustavad vitamiinid 3% (Tornberg 2005). Protsentuaalselt esineb lihas vähe süsivesikuid (1%). Lihas esinevaks süsivesikuks on glükogeen. Lihas leiduvatest mineraalainetest on esindatud naatrium, fosfor, kaalium, magneesium, raud ja väävliühendid. (Juks 2018)

Liha keemilist koostist mõjutavad looma liik, tõug, sugu, vanus, genotüüp, pidamisviis ja söötmine. Kõige suurema kõikumisega on rasvasisaldus. (Juks 2018)

### **1.5.1. Lihaskoe valgud**

Valgud koosnevad aminohapetest, mis jagunevad asendamatuteks ja asendatavateks. Lihaskoe kuivainest moodustavad nad 60–80%. See määrab lihaskoe toiteväärtuse ning omadused nagu õrnus ja veesidumisvõime.

Denaturatsioon muudab valkude struktuuri. Liha töötlemisel tekib valkude denaturatsioon kuumtöötamise käigus, kus need muudavad oma olekut. Liha valke jaotatakse kolme gruppi: müofibrillide valgud, sarkoplasma valgud ja sidekude (Juks 2018). Enamik sarkoplasmaatilisi valke agregeerub temperatuuri vahemikus 40–60 °C, kuid mõne puhul võib hüübimine toimuda temperatuuril 90 °C. Temperatuuril 53–63 °C toimub kollageeni denaturatsioon, millele järgneb

kollageenkiudude kokkutõmbumine. Juhul, kui kollageenkiud ei ole kuumuskindlate molekulide vaheliste sidemete abil stabiliseerunud, lahustub see ja moodustub želatiini. (Tornberg 2005)

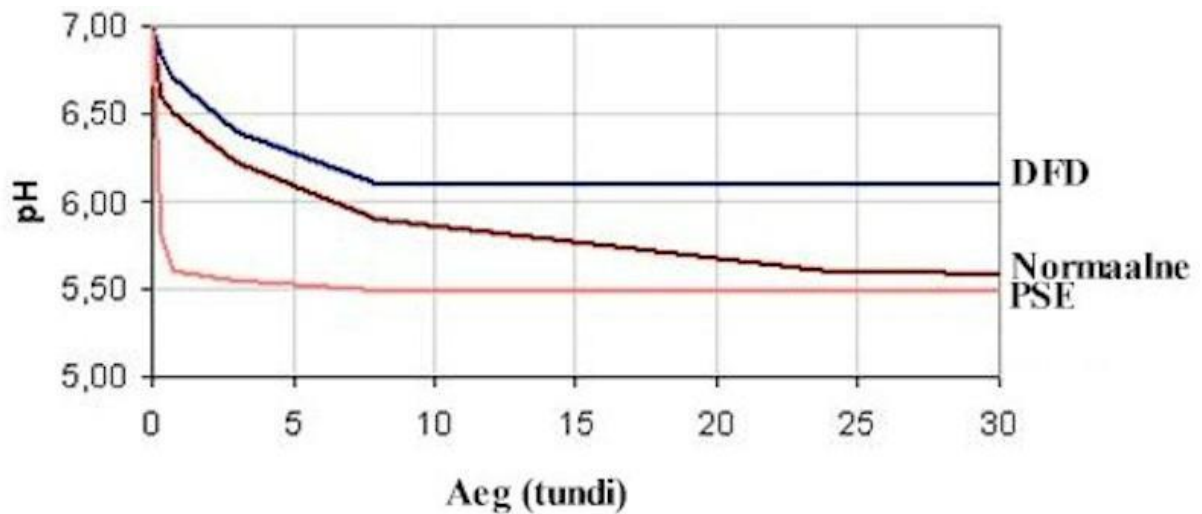
### **1.5.2. Rasvad**

Rasvad on ühed olulisemaid liha komponendid, mis annavad lihale maitse, mahlasuse ja tekstuuri. Rasva osakaal sõltub liha päritolust, looma vanusest ja toitumisest. Rasvkoe toiteväärtuse määrab lipiidide hulk ja nende omadused. Rasvad koosnevad rasvhapetest ja glütseroolist. Rasva konsistents sõltub küllastunud rasvhapete osakaalust, mida rohkem küllastunud rasvhappeid seda pehmem on rasv. (Juks 2018)

## **1.6. Liha füüsikalised näitajad**

### **1.6.1. pH**

Liha kvaliteedinäitajad nagu värvus, õrnus, maitse ja veesidumisvõime, sõltuvad suuresti liha pH-väärtusest. Elusa sea liha pH väärtus on tavaliselt 7. Normaalse liha väärtus langeb pärast tapmist vahemikku 5,4–5,7 (joonis 2). Kui lihas olev glükogeeni tase on pärast tapmist madal, siis on liha pH-väärtus kõrge ehk tegemist on DFD-lihaga (joonis 3), millele omasteks tunnusteks on tume, tuim ja kuiv liha. Kiire pH-taseme langus lihas põhjustab PSE-liha teket, kus pH väärtus langeb kiiresti (1,5 tunniga) alla 5,3. (Tänavots 2021)



**Joonis 2.** Liha pH muutus tapajärgselt (Tänavots 2021)

Märkused:

1. DFD – tume tihke kuiv
2. PSE – hele pehme; vesine
3. Normal – normaalne liha

Tapajärgne pH mõjutab samuti sensoorseid tunnuseid nagu mahlasus ja õrnus. Madal pH põhjustab lihas valkude denatureerumist ja veehoidimivõime kadumist. (Tänavots 2021)



**Joonis 3.** Normaalne sealiha ja selle kõrvalkaldded (Sesc k.p)

Märkused:

4. DFD – tume tihke kuiv
5. PSE – hele pehme; vesine
6. Normal – normaalne liha

### 1.6.2. Värvus

Lihale annavad punaka värvuse müoglobiin ja hemoglobiin (Lindhahl 2005: 9). Müoglobiin on sarkoplasma heemi valk, mis mõjutab peamiselt liha värvi. Müoglobiini ning väliste tegurite koostoimed reguleerivad nii toore kui ka keedetud liha värvi. Liha ja lihatoodete välimust mõjutavad erinevad tegurid nagu looma geneetika, tapajärgne seisund, keemiline koostis, töötlemine, pakendamine (Mancini *et al.* 2005). Enamik tarbijaid hindab ühe kvaliteedinäitajana liha värvust ning teeb selle põhjal ostuotsuseid. Esimesena märgatakse tavaliselt, et liha on liiga hele või pole punane, millest järeldatakse, et liha on vana või kehva kvaliteediga. *Rigor mortis* ehk surmakangestuse staadiumis liha õitseb aeglaselt, mis seab kahtluse alla algse värvuse mõõtmise tulemused. Optimaalse värvuse saavutamiseks tuleks liha võimalikult kiiresti jahutada. (Young *et al.* 1999)

Liha õitsemine ehk hapnikuõitseng (*blooming*, ingl k) tekib, kui hoida liha õhu käes ning sellel tekib helepunane värvus. Muutuste põhjuseks on oksümüoglobiini teke müoglobiinist (Rei *et al.* 1999). Tkacz *et al.* (2020) Uurisid veiseliha õitsemise protsessi. Veiseliha värvi mõjutas nii lihase tüüp kui ka laagerdumine. Värvuse parameetrite väärtused suurenesid vananemise 1. ja 9. päeva vahel. Uuringust selgus, et veiseliha saavutab oma värvuse 25 minutit pärast lõikamist, mis tähendab seda, et parimate värviomadustega on liha vahetult pärast lõikamist.

### 1.6.3. Veetidumisvõime

Veehoidmisvõimet (*water holding capacity*, WHC, ingl k) peetakse liha üheks oluliseks kvaliteedinäitajaks, mis mõjutab liha välimust, väljatulekut, tilkumis-, kuumtöötlemis- ja sulatuskadu (Xu *et al.* 2020). Suured keedu-, jahutus- ja suitsutamiskadud on omased PSE-lihale, kuna sellel on madal veetidumisvõime, mis jääb alla 53% (Põldvere k.p). Liha veetidumisvõimet määratakse seotud vee hulga põhjal ja väljendatakse protsentides liha massi suhtes. (Juks 2018)

#### **1.6.4. Kuumtöötlemise mõju lihale**

Kuumtöötlemine kutsub esile liha struktuuri ja selle koostisosade muutusi, mis mõjutab selle kvaliteediomadusi (Hernandez *et al.* 2018). Liha küpsemine algab temperatuuril 38 °C, mille juures toimub müosiini denaturatsioon. Kuumtöötlemise üheks peamiseks eesmärgiks on muuta liha või lihatoode ohutuks ning tarbijale võimalikult atraktiivseks. Kuumtöötlemisviis mõjutab enim liha pehmust ja õrnust. Kuumtöötlemise käigus muutub kollageen želatiiniks ning väheneb lihaskiudude omavaheline haakumine. Selleks, et säiliks paremad liha organoleptilised omadused on soovitatav liha kuumtöödelda madalal temperatuuril pika aja vältel. (Baldwin 2010)

#### **1.7. Taimsete lisandite kasutamine lihatoodetes**

Süntetilised antioksüdandid on inimese organismile negatiivse mõjuga, mille tõttu on tekkinud nõudlus nende looduslike alternatiivide järel. Samuti eelistavad tarbijad tervisele ohutumaid lisaaineid (Lorenzo *et al.* 2018). Oksüdeerunud lipiididega toidu tarbimist seostatakse vananemisega ning südamehaiguste, insuldi ja vähi tekkimise riskiga. Seetõttu kasutatakse nii toidus, kosmeetikas kui ka farmaatsiatoodetes laialdaselt antioksüdante. Peamiselt on kasutusel rosmariini ja salvei ekstraktid, mis on lõhnatud ja maitsetud (Pukalskas *et al.* 2002). Marjade töötlemisjäätgid moodustavad umbes 20% värske tooraine massist, sisaldades koori, seemneid, viljaliha ja marjavarsi. Lisaks on need ühendid madala pH juures stabiilsed, mis hõlbustab nende ekstraheerimist orgaanilisteks lahustiteks (Tamkute *et al.* 2019). Marjad on tavaline tooraine, mida töödeldakse toidu- ja mahlatoöstuses. Marjade töötlemisel tekib suures koguses tahkeid kõrvalsaadusi koore, viljaliha ja seemnete kujul, mis enamasti ei leia kasutust. Kõrvalsaadused tavaliselt põletatakse või ladustatakse prügilatesse, mis põhjustavad seetõttu negatiivset mõju keskkonnale. Kõrvalsaaduste väärimine on alternatiivne lähenemisviis, mis vähendab tekkivate jäätmete hulka ning soodustab sotsiaalmajanduslikku ja keskkonnaval kasu. (Gustinelli *et al.* 2018)



Taimed ja nende viljad sisaldavad mitmesuguseid bioloogiliselt aktiivseid sekundaarseid metaboliite, mille tõttu kasutatakse neid ravimite, toidulisandite ja funktsionaalsete toitude väljatöötamiseks (Skenderidis *et al.* 2019). Taimede lehed, juured, seemned, koor, koor, õli ja viljaliha sisaldavad rohkelt fenoolseid ühendeid, mis on võimelised toimima vesiniku doonorite või antioksidantset aktiivsust avaldavate radikaalide eemaldajatena (Cunha *et al.* 2018). Marjades leidub fenoolühendeid ja ohtralt antotsüaniini, mida oleks võimalik kasutada lihatoodetes lisaainetena. Taimeekstrakte lisatakse lihale vees lahustuvate ja vees lahustumatute ekstraktidena ning pulbrina. Lisatavate ainete hulka kuuluvad mahlad, kestad ja eeterlikud õlid ning jahvatatud taimsed produktid. Anton *et al.* (2019) leidsid, et pulbristatud taimsed materjalid sobivad hästi hakklihatoodetes antimikroobsete ja antioksidatiivsete ainetena. Lorenzo *et al.* (2018) ülevaates kasutati katsematerjalina harilikku leesika (*Arctostaphylos sp.*), mustika (*Vaccinium sp.*), põldmuraka (*Rubus sp.*), mustasõstra (*Ribes nigrum*), jõhvika (*Vaccinium sp.*), rabamuraka (*Rubus chamaemorus*), maasika (*Fragaria ananassa*) ja viinamarja marju (*Vitis sp.*). Uuringu tulemused näitasid, et mustikad, põldmurakad, jõhvikad ja viinamarjad võivad osaliselt või täielikult asendada lihatoodete sünteetilisi antioksidante. Marjade ekstraktides ja mahlades on antioksidantseid polüfenooli, mis aitavad ära hoida või vähendada toksikoloogilisi protsesse. Antud uuringus katsetati 6–30 päeva vältel taimsete polüfenoolide mõju erinevatele lihatoodetele nagu sealihast burgeripihvid, frankfurterid ning konservid. Valmistooteid hoiti 0–4 °C kraadi juures. Tabelis 2 on välja toodud täpsemalt lisatud taimeekstrakti kogused, säilitamistingimused ning saadud tulemused.

Harilikul leesikal on loodusliku antioksidandina kasutamiseks suur potentsiaal kõrge polüfenoolide sisalduse tõttu 57,4 g GAE/100 g. Samuti hinnati mustikaekstrakti mõju toore kui ka küpsetatud liha oksüdeerumisel. Hariliku leesika lisand toores lihas vähendas 2-tiobarbituurhappega reageerivate ainete sisaldust. Samuti vähenes küpsetatud liha proovidel lipiidide oksüdatsioon. Kasutatud marjade kontsentratsioonid jäid vahemikku 0,5–8,0 mg (Lorenzo *et al.* 2018). Antioksidantne toime ei sõltu ainult fenoolühendite kontsentratsioonist, vaid ka ekstraheerimismeetodist ja lahustist. (Hernandez *et al.* 2009)

**Tabel 2.** Marjaekstraktidest looduslike antioksidantide kasutamine lihas ja lihatoodetes (Lorenzo *et al.* 2018)

Ekstrakt	Polüfenooli sisaldus	Lisatud kogus	Testitud toode	Säilitamise tingimused	Mõju oksüdatsioonile
Leesikas	8,2 mg fenool (kuivatatud)	80 ja 1000 µg/g	Toores ja küpsetatud sealihapirukas	4 °C 12 päeva	RLO
	57, GAE/100 g	10, 20, 40, 60, 80, 1000 µg/g	Küpsetatud sealihapirukas	4 °C 12 päeva	RLO
Murakas	5,0 mg GAE/g maria	3% lõpp kogusest	Sealiha burgeri kotletid	2 °C 12 päeva	RPO
	5,0 mg GAE/g maria		Sealiha burgeri kotletid	2 °C 12 päeva	RLO, LDV
Mustsõstar	X	5, 10 ja 20 g/kg	Sealiha burgeri kotletid	4 °C 9 päeva	RLPO, RCO
Jõhvikas	158,8 µmol fenool (kuivatatud)	Mahlapulber 0,32%	Kalkuni pihv	2 °C 14 päeva	RLO, RRO
	200 µmol kvertsetiini / kg	Toorekstrakt	X	2 °C 9 päeva	RLO
Rabamurakas	16,2 mg GAE/g (Kuivatatud)	100 and 500 mg/kg	Küpsetatud sealiha kotlet	0 °C 6 päeva	RLO, LDV
Maasikas	4,3 mg GAE/g mari	130 ja 350 mg GAE/ kg Toote kohta	Frankfurteri vorstid	4 °C 30 päeva	RLO, LDV
	4,3 mg GAE/g mari	3% lõpp kogusest	Küpsetatud sealihapirukas	4 °C 12 päeva	RPO
	4,3 mg GAE/g mari	3% lõpp kogusest	Sealiha kotletid	4 °C 12 päeva	RLO, LDV

Märkused:

1. RLO – vähenenud lipiidide oksüdatsioon.
2. LDV – lipiididest tulenevad lenduvad ühendid.
3. RPO – vähenenud valgu oksüdatsioon (karbonüülid).
4. RLPO – vähenenud lipiidide ja valkude oksüdatsioon.
5. RCO – vähenenud värvuse oksüdatsioon.
6. RRO – vähenenud sensoorne lagunemine.
7. GAE – gallushappe ekvivalendid

Mustad sõstrad on head suhkrute ja orgaaniliste hapete allikas, kuna olulised metaboliidid, vitamiinid, antioksüdandid ja fenoolhapped suurendavad maitse ja aroomi kvaliteeti. Suhkrud ja orgaanilised happed on marjade peamised lahustuvad koostisosad ning neil on suur mõju maitse kujunemisel. (Paunovic *et al.* 2018)

Vuorela *et al.* (2005) uurisid Soomes rapsiseemne ja männikoore fenoolsete ühendite potentsiaali antioksüdantidena. Varasemad uuringud on näidanud, et need omavad antioksüdantseid ja põletikuvastaseid omadusi. Antud uuringus testiti rapsiseemnete ja männikoore fenoolide antioksüdantset toimet lipiidide ja valkude oksüdeerimise pärssimisel lihas. Keedetud sealiha koos taimse materjaliga oksüdeeriti üheksa päeva jooksul 5 °C juures valguse käes. Peale oksüdatsiooni mõõdeti heksaani moodustumist gaaskromatograafia abil ning valgu karbonüülide moodustumist, muutes need 2,4-dinitrofenüül hüdrasoonideks, mida mõõdeti spektrofotomeetri abil. Tulemuste põhjal saab järeldada, et rapsiseemnetel ja männikoortel on suurepärased antioksüdandid valkude oksüdeerumisel inhibeerimise teel vahemikus 42–64%.

Choi *et al.* (2010) uurisid oliivi-, viinamarjaseemne-, maisi-, rapsi- ja sojaõli ning riisikliide kiudainete asendamise mõju madala rasvasisaldusega frankfurteri vorstide keemilisele koostisele, kuumtöötlusomadustele, rasvhappelisele koostisele ning sensorsetele omadustele. Eesmärgiks oli vähendada sealiha rasvasisaldust 10%. Madala rasvasisaldusega frankfurteritel täheldati vähenenud rasvasisaldust, energiaväärtust, kolesterooli ja transrasvade sisaldust, kuid pH, kuumtöötlemiskadu ja TBARS-väärtused olid võrreldes kontrollgruppidega kõrgemad.

Maitsetaimi ja vürtse kasutatakse traditsiooniliselt nii toidu koostisosade kui ka nende antioksüdantsete omaduste tõttu. Hernandez *et al.* (2009) uurisid karnosooli, rosmariini ja karnosiinhapete kontsentratsiooni rosmariinis (*Rosmarinus officinalis* L.) ja pune lehtedes (*Origanum vulgare* L.) ning nende mõju sealiha hakkmassi oksüdatsioonile ning värvile. Ekstraktid valmistati ette leotamise teel etanooliga ja kloroformiga keetes. Rosmariini ekstraktidel oli suurem antioksüdantne toime. Need ekstraktid näitasid ka kõige suuremat antioksüdantset toimet, mis võis olla tingitud karnosiinhappest ja karnosoolist. Etanooli puneekstraktid, mis sisaldasid fenoolseid aineid, hoidsid tõhusalt ära liha värvi halvenemise.

### 1.7.1. Kanep ja kanepisaadused

Kanepit (*Cannabis sativa* L.) võib pidada mitmeotstarbeliseks põllukultuuriks, antud taimel saab kasutada nii seemneid, varsi kui ka lehti. Peamised kasutusvaldkonnad on ehitusmaterjalid, tekstiil, paber, toidud, joogid, autotööstus, mööbel ning kosmeetika (Crini *et al.* 2020). Kanep on inimeste toidulaua olnud kasutusel juba aastatuhandeid. Kanepit on kasutatud ravimise eesmärgil, kuid see on ka hea kiudainete- ning valguallikas. Kanepiseemne valgud koosnevad peamiselt globuliinist (edestiin) ja albumiinist, mis on inimesele kergesti seeditavad. Kanepi teeb väärtuslikuks selles sisalduv õli, mis saadakse külmpressimisel. Kanepiseemnetes sisalduva õli sisalduseks peetakse umbes 30% nende enda massist (Pihlanto *et al.* 2017). Crini *et al.* (2020) leidsid, et kanepiseemneõlis leidub ohtralt oomega-3 ja oomega-6 asendamatuid rasvhappeid. Kanepiseeme koosneb 35,5% õlist, 24,8% valgust, 27,6% kiudainetest ja 5,6% tuhast. (Xu *et al.* 2020)

Kanepiseemnetest eraldatud õlisid saab kasutada toiduna ja toidulisanditena, kuid see on vaid väike osa kogu kasutuselolevast toiduõlist, kuna umbes 90% kogu maailma toiduõlitoodangust pärineb palmist, sojaubadest, rapsist ja päevalillest. Kanepiõli on kõige parem kasutada värskelt ja kuumtöötlemata, pigem salatiõlina. Ligikaudu 80% kanepiseemneõli rasvhapetest on küllastumata, mis on tundlikud oksüdatiivsuse ja rääsumise suhtes. Seetõttu on soovitatav oksüdeerumise vältimiseks kiiresti ekstraheerida lämmastikuga ning hoida pimedas ja jahedas lagunemise vältimiseks. (Xu *et al.* 2020)

Mehhaaniliselt pressitud kanepiseemne presskook (proteiinisaldusega 35-45%) sisaldab ligikaudu 10% küllastumata ja oksüdatsioonile väga tundlikku jääkõli, mistõttu selle otsene lisamine lihatoitudesse võib negatiivselt mõjutada nende kvaliteeti. Kauplustes on müügil jahvatatud kanepiseemne presskooke, mis on tuntud suure taimse valgusisalduse poolest. Jahvatatud kanepiseemnest valmistatakse veel snäkke, jahusid ja proteiinijooke. (Pihlanto *et al.* 2017)

Kanepiseemnetes olev väärtusliku valgu osa on nende sisemistes osades, seemnekest ei ole niivõrd kõrge valgusisaldusega. Antud valgu kvaliteet on võrreldav munavalge ja sojaõli valguga. Kanepi valgusolaatides leiti palju asendamatuid aminohappeid, välja arvatud lüsiin.

Lisaks leidub kanepiseemnes ohtralt mineraalaineid ja vitamiine (Tabel 3) ning kanepis leidub fenooli umbkaudu 5,88-10,63 mg/g. (Pihlanto *et al.* 2017)

**Tabel 3.** Kanepiseemnes leiduvate mineraalide ja vitamiinide sisaldus (Pihlanto *et al.* 2017)

Mineraalaine/vitamiin	Sisaldus, mg/100 g
Fosfor	1160
Kaalium	859
Magneesium	483
Kaltsium	145
Raud	14
Naatrium	12
Mangaan	7
Tsink	7
Vask	2
Tiamiin	0,4
Riboflaviin	0,1

Kanepit on lihatoodetes vähe kasutatud ning seetõttu on tehtud vähe sellekohaseid uuringuid. Zajac *et al.* (2019) uurisid erinevate kanepivalgude mõju lihaleibadele, mille käigus selgus, et kanepiseemned tõstavad toiteväärtust.

### 1.7.2. Harilik lõhnhein

Harilik lõhnhein (*Hierochloe odorata*) on mitmeaastane püsitaim, mis vajab kasvamiseks niisket ja viljakat pinnast. Taim on laialdaselt levinud Põhja-Euroopas ja Alaskal, kuid ka Newfoundlandi saarel lauspäikese all. (Pukalskas *et al.* 2002)

Leedus Kaunase Tehnoloogia Ülikoolis läbiviidud uuringu põhjal on harilik lõhnhein hea 2,2-difenüül-1-pikrüülhüdrasüül (DPPH) vabade radikaalide püüdja. Lõhnheina ekstrakti

antioksidatiivne toime on võrreldav rosmariini omaga (Pukalskas *et al.* 2002) ja BHT toimega samal kontsentratsioonil (Bandonien *et al.* 2000). Bandonien *et al.* (2000) uuringu kohaselt näitas harilik lõhnhein rapsiõlis väga head oküdatiivset toimet, sisaldades 22,0 mg fenooli 1g kuivmassi kohta. Anud uuringu põhjal võib arvata, et harilik lõhnhein sisaldab väga tugevaid koostisosi, mis aeglustavad lipiidide peroksüdatsiooni. Uuringus soovitatakse rapsiõlis kasutada lõhnheina 0,05% kontsentratsioonina.

DPPH on tumedat värvi kristalne pulber, mis koosneb stabiilsetest vabade radikaalide molekulidest. DPPH-l on kaks peamist rakendust, millest mõlemaid kasutatakse laboratoorsetes uuringutes: 1) radikaalidega seotud keemiliste reaktsioonide jälgija, eriti kasutatakse seda antioksidantanalüüsis ja teine on elektronide paramagnetiliste resonantssignaali asukoha ja intensiivsuse standard. Fenoolide DPPH-d puhastav toime on positiivses korrelatsioonis hüdroksüülrühmade arvuga (Sharma *et al.* 2009). Antud uuringu põhjal saab järeldada, et harilik lõhnhein on hea antioksidant.

## 1.8. Eestis läbiviidud uuringud

Anton *et al.* (2019) uurisid, millist mõju avaldavad rabarberi- ja tomatipulbri ning nende segu seahakklihale. Hinnati sensoorseid omadusi, mikroobide kasvu ja lipiidide oksüdeerumist nii toores kui ka kuumtöödeldud hakklihas. Tulemused näitasid, et tomati- ja rabarberipulber lisasid meeldiva kombineeritud maitse ning värvi, lisaks ka soolakama maitse. Tomatipulber oli kõige tõhusam hallitus- ja pärmseenete pidurdaja. Tooretel proovides lisati segule juurde mustsõstraid ja arooniaid, mis pärssisid lipiidide oksüdeerumist. Rabarberi (*R. rhaponticum*) juured sisaldavad hüdroksüstilbeneeni, trans-pikeatannooli, trans-resveratrooli, trans-rapontigeniini ja trans-deoksürhapontigeniini derivaate. Polüfenoolide profiil *R. rhaponticum* leherootsudes on sarnane juurte omaga, kuid üksikute ainete sisaldus oli märkimisväärselt madalam. *R. rhaponticum* leherootsud sisaldavad lisaks palju flavonool kvartsetiini derivaate, mis on hea antioksidant. (Püssa *et al.* 2008)

Helmja *et al.* (2008) uuringus võrreldi tomatikoore ekstrakti kogu fenool- ja flavonoidisisaldust baklažaani (*Solanum melongena*) ja tšillipipra (*Capsicum annuum*) omadega, mis kuuluvad samuti *Solanaceae* taim perekonda. Võrdlus näitab, et baklažaanil on suurim fenool- ja flavonoidisisaldus 550 mg/100 g (1,48 g / l) ja 344 mg/100 g (1,15 g / l) kokku, millele järgneb tšillipipar fenoolisisaldusega 246 mg / 100 g (0,821 g / l) ja flavonoidisisaldusega 132 mg/100 g (0,44 g / l). Tomatikoore ekstrakti kogu fenoolide sisaldus oli 174 mg / 100 g (0,58 g/l) ja flavonoidide sisaldus 117 mg / 100 g (0,39 g / l). Fenool- ja flavonoidide üldsisaldus väljendatakse pargihappe ja rutiini ekvivalendina vastavalt 100 g kuivmassi kohta. Tomatikoore ekstrakti flavonoidide sisaldus moodustab umbes 67% kogu fenoolisisaldusest.

Tomat (*Solanum lycopersicum*) on tuntud oma tervislike koostisosade poolest. Tomatis leidub fenoolseid ühendeid nagu flavonoidid ja fenoolhapped ning fütoleksiine, glükoalkaloide ja karotenoide (lükopeen ja  $\beta$ -karoteen). Lisaks on tomais vitamiinid C, E ja A. Uuringus leiti, et naringeniinkalkoon on hea antioksidant ning klorogeensete ja kofeiinhapete antioksidatiivne võime on keskmine. (Helmja *et al.* 2008)

Püssa *et al.* (2008) lisisid mehaaniliselt konditustatud lihale, mis sisaldab kümme korda rohkem polüküllastumata rasvhappeid kui käsitsi kondistatud liha, astelpaju (*Hippophae rhamnoides*) marjade tahkeid jääke, mis pärssib nii kana- kui ka kalkuniliha küllastumata rasvhapete oksüdeerumist. Oksüdeerumist, mis viib PUFA-de potentsiaalselt mutageensete ja kantserogeensete derivaatide moodustumiseni, saab pärssida antioksidantsete polüfenoolide rohkete marjaekstraktidega.

Raudsepp *et al.* (2013) uuringu eesmärk oli hinnata etanooli puhverlahuse antioksidatiivset ja antimikroobset toimet kuuel Eestis kasvatataval taimel: Siberi rabarber (*Rheum rhaponticum* L.), sinine kuslapuu (*Lonicera caerulea* L.), tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.), mustikas (*Vaccinium myrtillus* L.), astelpaju (*Hippophae rhamnoides* L.) ja mustsõstarad (*Ribes nigrum* L.). Uuritud taimede infusioonidel olid nii antioksidantsed kui ka antimikroobsed omadused. Suurim antioksidatiivne toime puhverdatud vee infusioonis leiti sinise kuslapuu marjadest. 30%-listes etanooliinfusioonides oli antioksidatiivne toime kõrgeim Siberi rabarberi leherootsudes, mida ületas ainult askorbiinhappe lahus kontsentratsiooniga 10 mg/ml. Testitud taimsete leotiste seas oli Siberi rabarberi juurtel kõigi suhtes kõrgeim antibakteriaalne toime.

## 2. MATERJAL JA METOODIKA

Katsed viidi läbi EMÜ Toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetooli laborites neljal korral. Esimene partii valmistati märtsis 2020 ja kolme partii katsed teostati 2020 novembris - 2021 märtsis. Teostatavad analüüsid ning vastavad analüüsipäevad on välja toodud tabelis 4.

**Tabel 4.** Teostatavad analüüsid ning vastavad analüüsipäevad

Mõõdetav parameeter	Meetod	Säilitamise aeg, päev					
		0.	1.	4.	8.	15.	21.
pH	pH-meeter	x		x	x	x	x
Vee aktiivsus (aw)	AQUA LAB	x		x	x	x	x
Valgusisaldus (%)	AOAC official Method 2001.11 (Kjeldahl meetod) ISO 936: 1998	x					
Tuhasisaldus (%)	ISO 936: 1998	x					
Rasvasisaldus (%)	Gerberi	x					
Niiskusesisaldus (%)	EVS-ISO 1442:1999	x					
Liha värvus	X-Rite 964	x		x	x	x	x
TBARS (mg MDA/kg)	Modif Pikul <i>et al.</i> , 1989 põhjal	x		x	x	x	x
Grillimiskadu	Gravimeetriliselt	x					
Sensoorsed näitajad (kuumtöödeldud pihv: välimus, värvus, lõhn, maitse, tekstuur)	Hedooniline 9-punktiline skaala		x	x	x		
Sensoorsed näitajad toorest pihvist (välimus, värvus, lõhn)	Hedooniline 9-punktiline skaala		x	x			

Märkus:

1. X – tähistab proovi võtmise päeva



Pihvide valmistamiseks kasutati Tartu Rotaks lihapoest ostetud seahakkliha (valku 18,62%, vett 67,82%, rasva 12,21%, tuhka 0,98%). Maitseained (sool ja must pipar) soetati kohalikust toidupoest. Pihvide segudele lisati taimseid lisandeid nagu superkriitilise CO<sub>2</sub> ekstraheerimise teel täielikult rasvatustatud kanepiseemne jahu, kuivatatud ja mehaaniliselt pressitud kanepiseemne jahu, ja hariliku lõhnheina ekstrakti ning hariliku lõhnheina ja kuivatatud mehaaniliselt pressitud kanepiseemne jahu segu. Tulemusi võrreldi kontrollprooviga ehk pihvid ilma lisanditeta.

Kuivatatud ja mehaaniliselt pressitud kanepiseeme sisaldas valku 36,6g/100g, rasva 13,3g/100g ja kiudaineid 21,0g/100g kohta. Superkriitilise CO<sub>2</sub> ekstraheerimise teel täielikult rasvatustatud kanepiseemne jahu sisaldas valku 51,7g/100g, rasva 1,4g/100g, kiudaineid 26,1g/100g (orgaaniline LT-EKO-001; SFE CO<sub>2</sub> (Borela, Kaunas, Leedu)). Hariliku lõhnheina ekstrakt pärines Kaunase Tehnoloogiaülikoolist (*Kaunas University of Technology*).

Pihvisegu valmistamisel kasutati kraanivett, soola ja musta pipart ning seahakkliha. Segu segati käsitsi ühtlase massi moodustumiseni. Segu jaotati 5 portsjoniks: 1) kontrollproov (83,5% seahakkliha, 15% vett, 1,5% soola ja 0,2% pipart); 2) 2% kuivatatud ja mehaaniliselt pressitud kanepiseemne jahuga (RH); 3) 2% täielikult rasvatustatud kanepiseemnejahuga (DH); 4) 0,5% hariliku lõhnheina ekstraktiga (SG); 5) SG ja RH vastavalt 0,5% ja 1,5% (RHSG). Pihvide valmistamiseks kaaluti 70 grammi pihvisegu, millest vormiti pallid ja anti pihvi kuju (Ø 8.6 cm) vastava pressiga (Indasia, Kreeka). Vormitud pihvid grilliti eelsoojendatud teflonkattega grillil Sage Smart Grill Pro Model BGR840 BSS (Breville, Sydney, Austraalia) sisetemperatuuri 75 °C saavutamiseni (mõõdeti grilli temperatuurianduriga).

Grillitud pihvid jahutati toatemperatuurini ja pakendati MAP pakendusseadmega Vision Pack Srl VP01 (Packaging Factory Holding, Itaalia) kasutades modifitseeritud atmosfääri (70% N<sub>2</sub> ja 30% CO<sub>2</sub>) (AS Linde Gas, Eesti). Pakendatud proove säilitati temperatuuril +4 °C kogu säilimisaja jooksul (0., 4., 8., 15. ja 21. päev).

## 2.1. Füüsikaliste-keemiliste näitajate määramine

### 2.1.1. Niiskusesisaldus

Niiskusesisalduse määramiseks kasutati EVS-ISO 1442:1999. Liha ja lihatoodete niiskusesisalduse põhimeetodit arvutades massikadu. Büksid koos liiva ja klaaspulgaga kuivatati 30 minutit  $103 \pm 2$  °C juures konstantse massini kuivatuskapis Binder FED115 (Binder GmbH, Tuttlingen, Saksamaa).

Analüüsi teostamiseks kaaluti 5–8 grammi homogeniseeritud proovi alumiiniumist proovitopsi. Uuritav proov segati ja näit fikseeriti 0,0001 g täpsusega ning proov kuivatati 103 °C juures püsiva massini (keskmise kulu umbes 9 tundi). Seejärel asetati kaanega kaetud büksid eksikaatorisse ja jahutati toatemperatuurini. Jääkmass kaaluti ning arvutati massikadu, mis esitati protsentuaalse sisaldusena proovi massist.

Niiskusesisaldus (W%) arvutati kasutades valemit:

$$W\% = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100, \quad (1)$$

$m_0$ – büksi mass koos klaaspulga ja liivaga, g,

$m_1$ – büksi mass koos katse koguse, liiva ja klaaspulgaga enne kuivatamist, g,

$X = 100 \cdot (a - b)$  a– büksi mass koos katse koguse, liiva ja klaaspulgaga pärast kuivatamist, g.  
(EVS-ISO 1442:1999)

### 2.1.2. Valgusisaldus

Valgusisalduse määramiseks kasutati AOAC official Method 2001.11 – „*Crude protein in Animal feed, Forage, Grain, and Oilseeds*“ ja AACC 46- 13- „*Crude Protein - Kjeldahl method*“ metoodikat.

Selleks põletati analüüsitavat proovi kontsentreeritud väävelhappega, katalüsaatorina kasutati vask (II) sulfaati, et viia orgaaniline lämmastik ammoniumioonideks. Edasi lisati leelis, destilleeriti gaasiline ammoniaak boorhappe lahusesse ning tiitriti soolhappega, et leida proovi lämmastikuisaldus. Leidmaks proovi valgusisaldus, korrutati see proteiini faktoriga 6,25. Saadud tulemused väljendati massiprotsentides.

### 2.1.3. Tuhasisaldus

Tuhasisaldus määrati gravimeetriliselt vastavalt ISO standardile ISO 936: 1998 „*Meat and meat products - Determination of total ash*“ (ISO 936: 1998).

Portselantiiglit põletati muhvelahjus Naberterm 20 minutit temperatuuril 550 °C konstantse massi saavutamiseni. Seejärel jahutati tiiglit eksikaatoris ning kaaluti 0,001 g täpsusega. Eelnevalt homogeniseeritud proovi võeti 1,5–2,0 g eelnevalt ettevalmistatud tiiglisse ja kaaluti koos sisuga 0,001 g täpsusega. Seejärel asetati tiigel koos sisuga jahedasse muhvelahju ning tõsteti temperatuuri aeglaselt 6 tunni jooksul 550±25 °C-ni. Tuhastamist jätkati samal temperatuuril kuni hallikas-valge tuha saamiseni. Tiigel jahutati koos tuhaga eksikaatoris ning kaaluti 0,001 g täpsusega.

#### 2.1.4. Rasvasisaldus

Rasvasisaldus määrati pihvides Gerberi meetodil, kus rasv eraldati valkudest väävelhappe lisamisega. Lahustumist kiirendati amüülalkoholi kasutamise ja tsentrifuugimisega. Rasvasisalduse hindamiseks kasutati kalibreeritud butüromeetrit.

Kuumtöödeldud pihvist võetud proov homogeniseeriti ühtlaseks ja säilitati Petri tassis. Butüromeetrisse lisati 10 ml väävelhapet ja 2,0–2,5 g peenestatud proovimassi. Selle lisamisel tuleb vältida butüromeetri kaelaosa määrdumist. Seejärel lisati 1 ml isoamüülalkoholi ja 5 ml väävelhapet. Butüromeeter sulgeti kuiva kummikorgiga, surudes seda veidi üle poole võrra ava kaela sisse. Butüromeetrit keerutati 2–3 korda ümber ja hoiti vesivannis 65 °C juures 45 minutit. Kui butüromeetri segu oli ühtlustund ja ei olnud näha enam proovitükikesi, siis viidi butüromeeter tsentrifuugi ning pandi selle gradueeritud osad tsentri poole sümmeetriliselt. Proove tsentrifuugiti 20 minutit kiirusega 1000–1200 p/min ning väljavõtmisel reguleeriti rasvasammast korgi nihutamisega butüromeetri gradueeritud osasse.

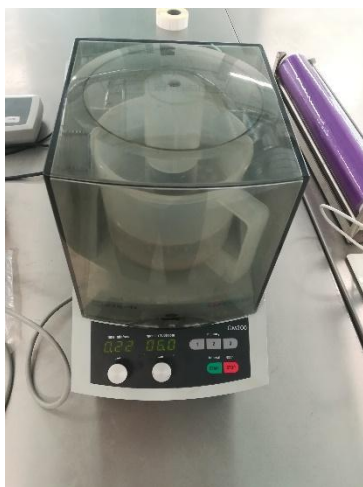
Butüromeeter asetati uuesti vesivanni korgiga allapoole. Pärast 10-minutilist soojenemist loeti skaalalt rasvanivoo kõrgus, hoides rasvanivood silma kõrgusel. Korki liigutades viidi rasva alumine nivoo butüromeetri skaala nullini. Tulemus loeti alumise meniski järgi skaala väikseima jaotise täpsusega.

$$Rasva \% = 5x \frac{Näit (rasva nivoo kõrgus)}{Proovi mass}, \quad (2)$$

#### 2.1.5. pH-väärtus

pH-väärtus määrati pH-meetriga Mettler Toledo Seven 2Go™ (Mettler-Toledo AG Analytical, Šveits). Enne mõõtmisi kalibreeriti seade puhverlahustega standardväärtustel 4,0 ja 7,0. pH-

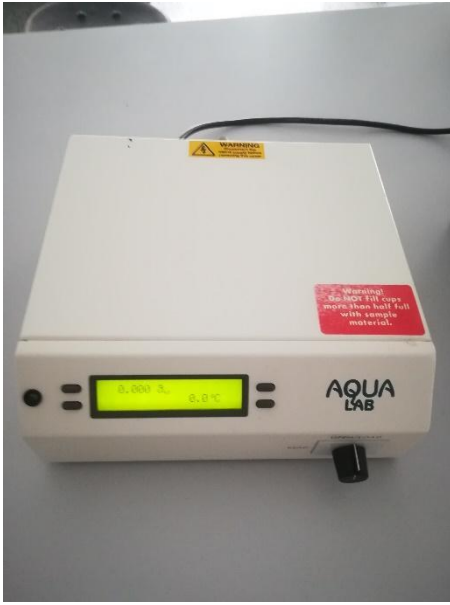
väärtuse mõõtmiseks kaaluti homogeniseeritud kuumtöödeldud pihvist 5 g proovi, mõõdeti 50 ml 0,1 M KCl lahust ja homogeniseeriti (1 min 6000 rpm) homogenisaatoriga Retsch GM200 (joonis 4) (Retsch GmbH & Co, Saksamaa). Mõõdetavasse lahusesse pandi elektrood ning registreeriti näit ekraanil. Elektrood puhastati pärast igat mõõtmiskorda destilleeritud veega vältimaks mõõtmisvigade teket.



**Joonis 4.** Homogenisaator Retsch GM200 (A. Post)

#### **2.1.6. Vee aktiivsus**

Vee aktiivsuse ( $a_w$ ) mõõtmiseks võeti igal katsepäeval kuumtöödeldud pihvist homogeniseerimata proov analüsaatori topsi ning asetati seadmesse Aqua Lab, Model Series 3 TE (joonis 5) (Decagon Devices, Inc., Washington, USA). Seejärel registreeriti näit.



**Joonis 5.** Vee aktiivsuse mõõtja Aqua LAB (A. Post)

### **2.1.7. Grillimiskadu**

Iga seeria kolme pihvi alg- ja lõppkaal määrati toatemperatuuril ja kaalukadu väljendati protsentides.

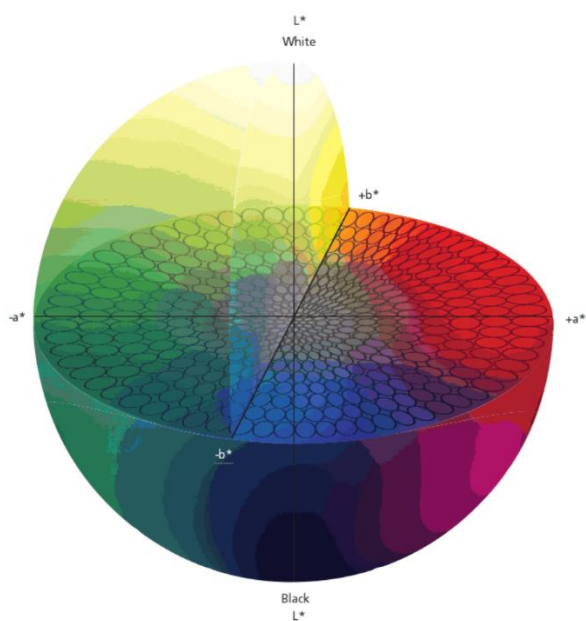
Pärast grillimist jahtuti pihve toatemperatuuril 20 minutit.

Grillimiskadu leiti valemiga:

$$\text{Grillimiskadu, \%} = \frac{\text{toore pihvi mass,g} - \text{kuumtöödeldud pihvi mass,g}}{\text{toore pihvi mass,g}} \times 100, \quad (3)$$

### 2.1.8. Värvus

Pihvide värvust mõõdeti kolorimeetriga A X-Rite 964 (joonis 7) (Grand Rapids, MI, USA) (illuminant  $D_{65}$ ,  $10^\circ$ ). Värvuse määramisel registreeriti väärtused CIE värvisüsteemis  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  (joonis 6), kus  $L^*$  – heledus (*lightness* [0 = must, 100 = valge]),  $a^*$  – punasus (*redness*) ja  $b^*$  – kollasus (*yellowness*) .



**Joonis 6.**  $L^*a^*b^*$  värvusruum (X-Rite k.p)

Eelnevalt kalibreeriti kolorimeeter mustal ja valgel pinnal vastavalt tootja poolt etteantud juhiste. Värvuse mõõtmisel asetati poolitatud pihv läbipaistva toidukile vahele, et mõõta värvuse väärtused lõikepinnalt kolmest erinevast kohast.



**Joonis 7.** Kolorimeeter A X-Rite 964 (A. Post)

#### **2.1.9. Oksüdatsiooniastme määramine**

Oksüdatsiooni kiirust hinnati rasvade oksüdatsioonil tiobarbituurhappega (TBARS) reageerivate ainete hulga alusel. TBARS analüüsid teostati 1., 4., 8., 15. ja 21. päeval. Absorbtsioon määrati spektrofotomeetriliselt lainepikkusel 538 nm ja tulemused väljendati maloondialdehüüdi (MDA) mg-des ühe kg toote kohta (Pikul *et al.* 1989). Analüüsid teostati kolmes korduses.

#### **2.2. Sensoorne analüüs**

Analüüsi teostamisel on oluline assessorite valim. Parima tulemuse saamiseks peab kõikidel analüüsi päevadel olema hindajate koosseis sama. Samuti on oluline üheselt mõistetav toote hindamise protokoll.



Pihvidele sensoorse hinnangu andmisel olid degustaatoriteks Eesti Maaülikooli toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetooli töötajad ja tudengid. Sensoorne hindamine viidi läbi kuumtöödeldud pihvide viimase katsepartiiga 1., 4. ja 8. päeval ning tooreid pihve hinnati 1. ja 4. katsepäeval. Hindamisel andsid oma hinnangu ankeeti täites kaheksa assessorit (lisa 1). Degustatsioonile eelnevalt tutvustati paneeli liikmetele hindamisprotsessi ning selgitati hindamise metoodikat. Sensoorse analüüsi käigus hinnati tooteid 9-punktilisel hedoonilisel skaalal (1 – ei meeldi kuni 9 – meeldib väga). Grillitud pihvidel paluti hinnata tekstuuri, maitset, värvust, lõhna, mahlasust ja välimust ning toorestel pihvidel välimust, lõhna ja värvi. Degusteerijatel paluti pihve hinnata pimetestina, kus assessorid ei teadnud, mis lisandiga pihviga on tegemist. Erinevate taimsete lisanditega pihvid serveeriti kodeeritud valgetel taldrikutel. Grillitud pihve soojendati vahetult enne degusteerimist mikrolaineahjus (Moulinex Micro-Chef) võimsusel 750 W.

Sensoorse analüüsi tulemused on esitatud kokkuvõtlikult kõikide hindamispäevade kohta radardiagrammidena kuna erinevatel hindamise päevadel tulemused suurt muutust ei näidanud.

### **2.3. Statistiline analüüs**

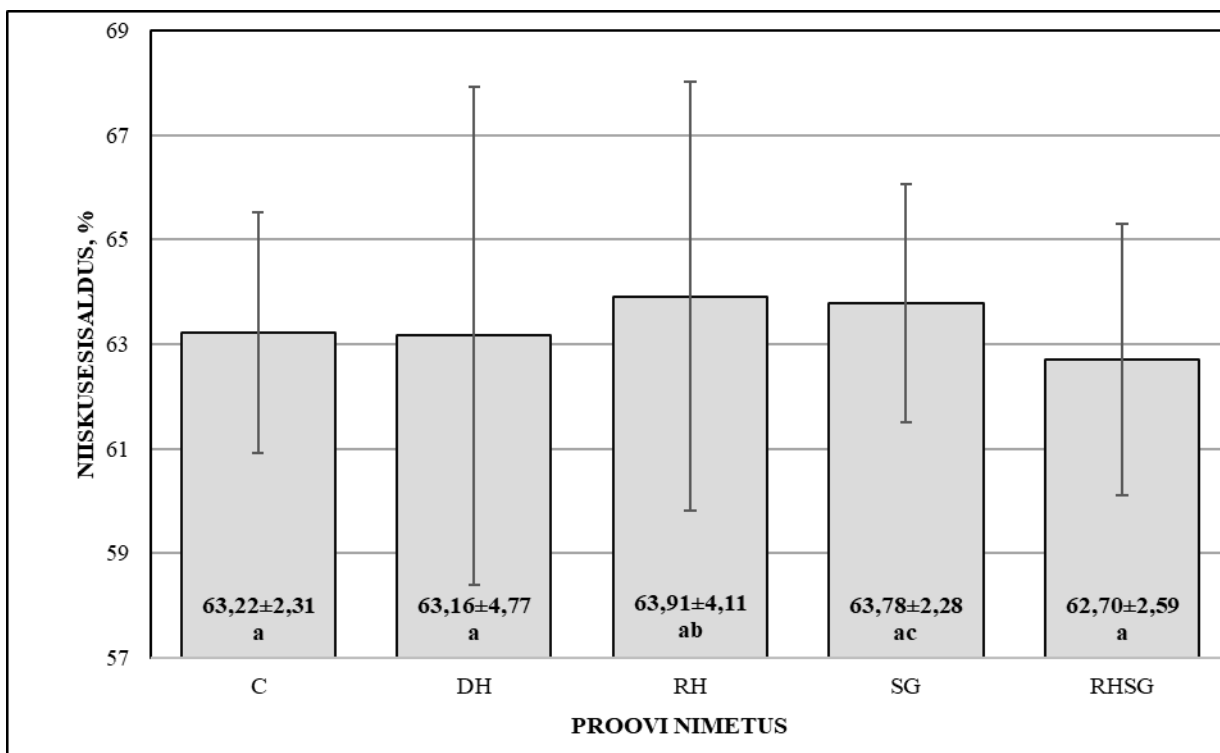
Katsete käigus saadud tulemuste analüüsimiseks kasutati andmetöötlusprogrammi *MS Excel* 2016. Kõigile tunnustele leiti keskväärtused ja standardhälbed. Erinevate gruppide vaheliste statistilised erinevused leiti ühefaktorilise dispersioonanalüüsiga ning leitud erinevusi testiti t-testiga. Kui olulisuse tõenäosus oli  $P \leq 0,05$ , siis hinnati kahe tunnuse vahelist seost statistiliselt oluliseks.

### 3. TULEMUSED JA JÄRELDUSED

#### 3.1. Pihvide keemiline koostis

Igast partiist määrati kõikidel pihvidel valmistamise päeval keemiline koostis. Leiti nelja partii niiskuse-, valgu-, rasva- ja tuhasisalduse keskväärtused ja standardhälbed. Joonisel 8 on pihvide niiskusesisalduse näitajad sõltuvalt lisandist.

Valmistatud pihvidest suurima niiskusesisaldusega oli RH pihv (63,91%) sarnase tulemuse andis SG pihv (63,78%) ja väikseima RHSG (62,70%) lisandiga pihv (62,70%). Kontrollproovi ja DH pihvide niiskusesisaldus oli vastavalt 63,22% ja 63,16%. Antud tulemuste põhjal võib järeldada, et RH ja SG suurendavad veidi pihvides olevat niiskusesisaldust. Pihvide niiskusesisalduse näitajate vahel suurt erinevust ei esinenud. Võrreldes SG ja RH niiskusesisalduse tulemusi kontrollprooviga leiti, et tulemused on statistiliselt erinevad ( $P < 0,05$ ). Vaadeldes Choi *et al.* (2010) uuringu tulemusi, kus kasutati lisanditena oliivi-, viinamarjaseemne-, maisi-, rapsi- ja sojaõli saadi niiskusesisalduse tulemused vahemikus 57,26–56,94, millest võib järeldada, et antud töö niiskusesisalduse näitajad on kõikides pihvides suuremad.



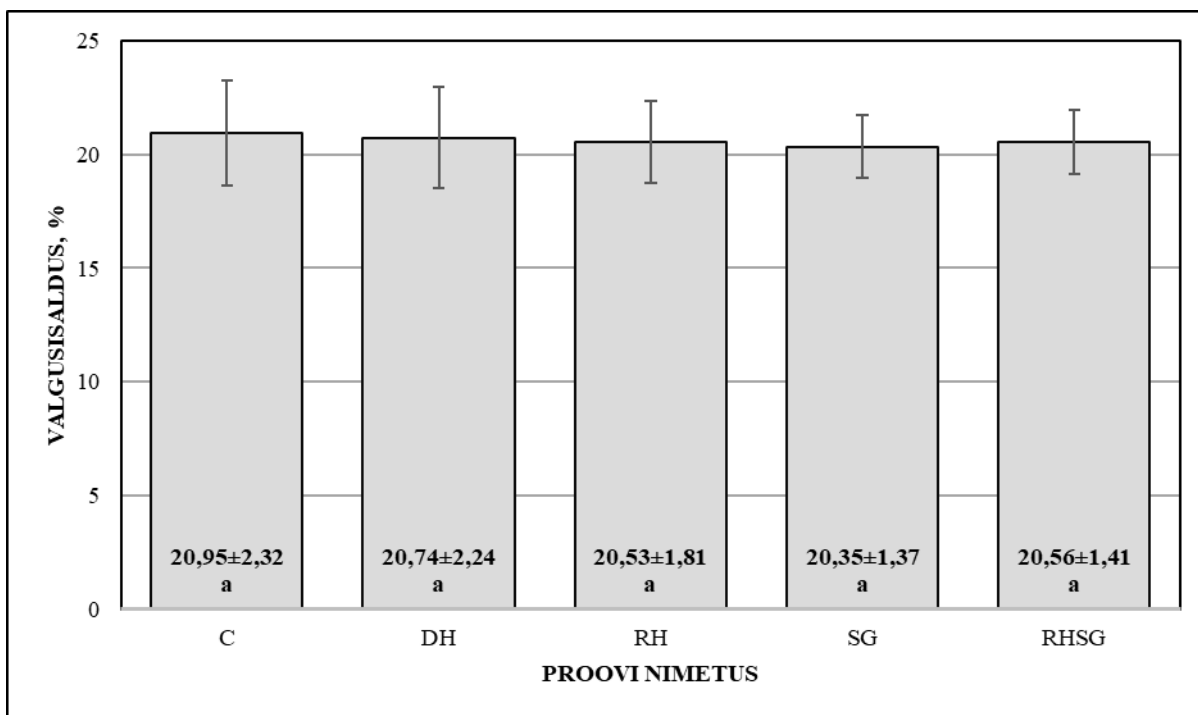
**Joonis 8.** Pihvide niiskusesisalduse keskmised sõltuvalt lisandist

Märkused:

1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiini; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.
2. Erinevad väiketähed (a, b, c) tähistavad lisandite vahelist statistilist erinevust ( $P < 0,05$ )

Võrreldes SG ja RH niiskusesisalduse tulemusi kontrollprooviga leiti, et tulemused on statistiliselt erinevad ( $P < 0,05$ ).

Ootuspäraselt kõige suurema valgusisaldusega pihvid olid C (20,95%) ja DH (20,74%) ning väikseima valgusisaldusega SG (20,35%) (joonis 9). C ja DH pihvide valgusisaldus oli suurem, kuna kontrollproov ei sisaldanud taimseid lisandeid ja DH proovile oli lisatud taimset proteiini kanepina. Võrreldes lisanditega pihvide valgusisalduse tulemusi kontrollprooviga ei leitud statistiliselt olulisi erinevusi ( $P > 0,05$ ). Choi *et al.* (2010) uuringus, kus kasutati lisanditena oliivi-, viinamarjaseemne-, maisi-, rapsi- ja sojaõli on leitud valgusisalduse näitajad samuti kõikides proovides sarnased, kuid käesoleva uuringu valgusisalduse näitajad on umbes 7% kõrgemad.

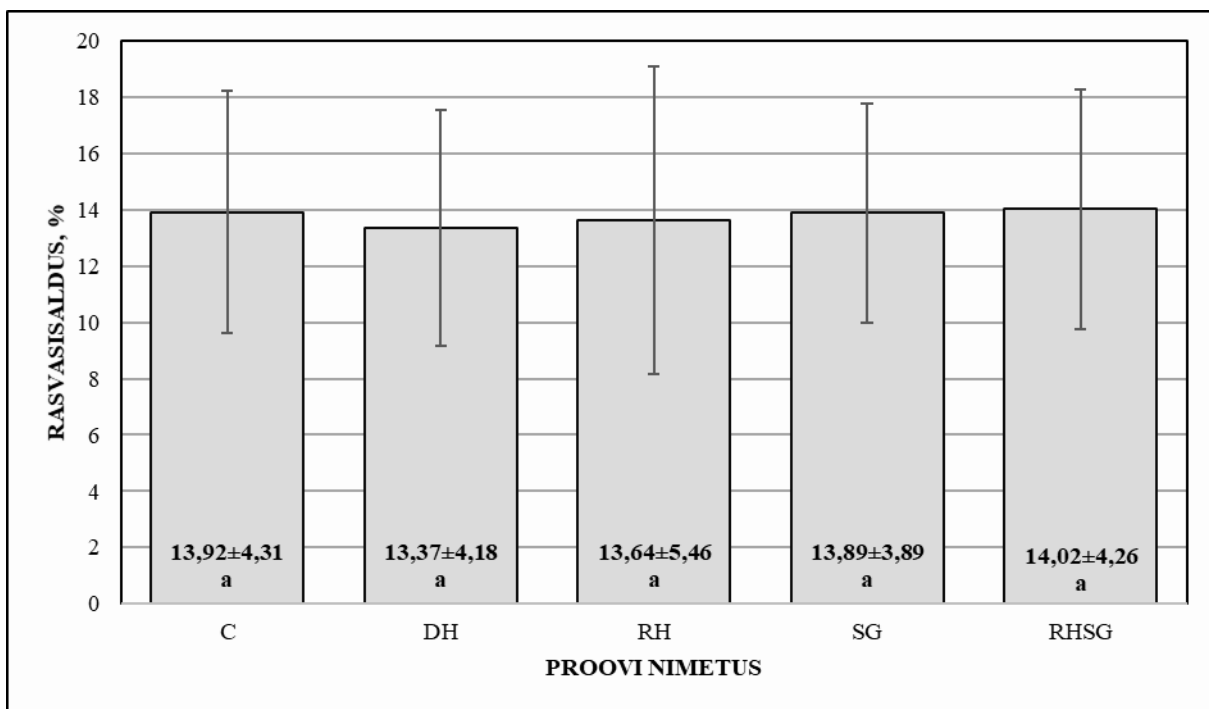


**Joonis 9.** Pihvide keskmised valgusisaldused

Märkused:

1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.
2. Erinevad väiketähed (a, b, c) tähistavad lisandite vahelist statistilist erinevust ( $P < 0,05$ )

Suurima rasvasisaldusega pihvid olid mõnevõrra üllatavalt RHSG lisandiga (14,02%) ja samuti C pihvid (13,92%) (joonis 10). RHSG rasvasisaldust võib põhjendada RH lisamisega kuna SG ise ei sisalda rasva. Väikseim rasvasisaldus oli DH pihvides 13,37%, antud väärtust ei saa pidada statistiliselt oluliselt erinevaks ( $P > 0,05$ ) võrreldes kontrollprooviga. Choi *et al.* (2010) uuringus vähendasid ekstraktid rasvasisaldust võrreldes kontrollprooviga, kuid käesolevas töös andsid sarnase tulemuse kõik pihvid.

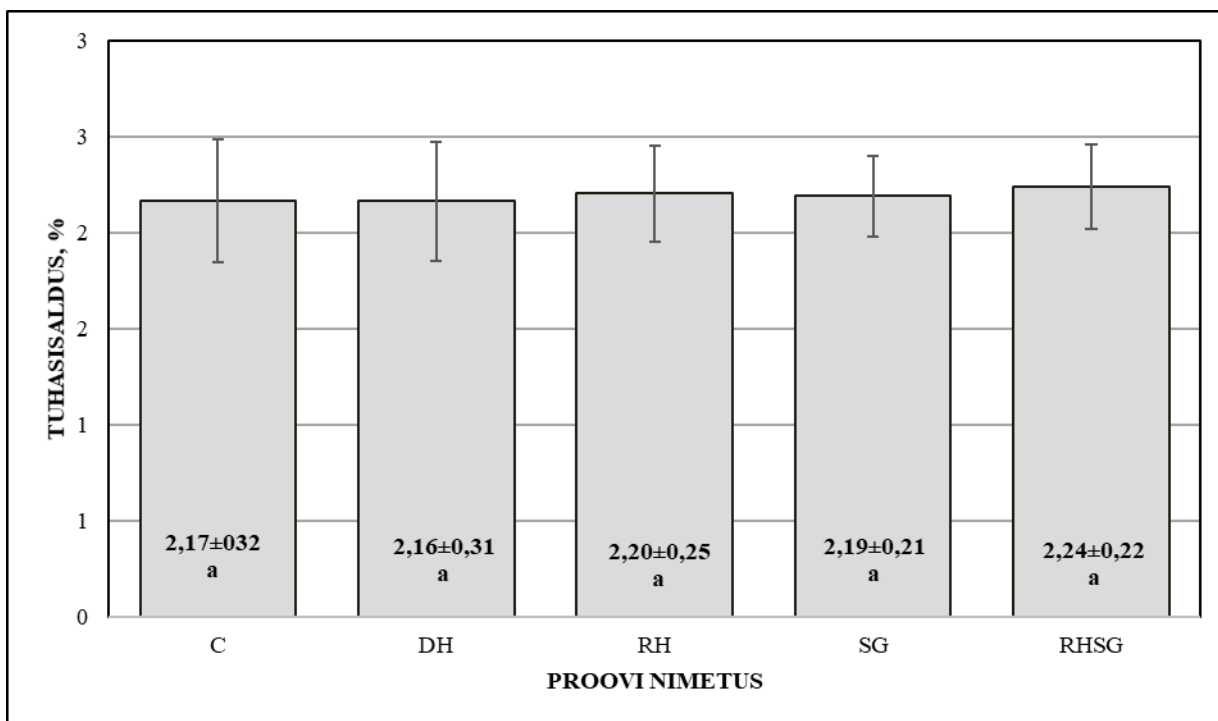


**Joonis 10.** Pihvide keskmised rasvasisaldused

Märkused:

1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.
2. Erinevad väiketähed (a, b, c) tähistavad lisandite vahelist statistilist erinevust ( $P < 0,05$ )

Suurima tuhasisaldusega olid RHSG (2,24%) ja RH (2,20%) pihvid (joonis 11). Antud tulemusi ilmselt mõjutas RH ja SG lisandist tulev mineraalainete sisaldus. C ja DH pihvide tuhasisalduse näidud olid vastavalt 2,17% ja 2,16% ning sarnane tulemus saadi SG proovilt (2,19%). Pihvide tuhasisalduste vahel suurt varieeruvust ei esinenud. Lisandite võrdlus kontrollprooviga statistiliselt olulist erinevust ei näidanud, mis mõjutaks pihvides leiduvat tuhasisaldust. Choi *et al.* (2010) uurisid oliivi-, viinamarjaseemne-, maisi-, rapsi- ja sojaõli ning riisikiudude lisamise mõju madala rasvasisaldusega frankfurteritele, kus tuhasisalduse näitajad jäid vahemikku 1,81-1,94. Mainitud uuringu tulemused on sarnased käesoleva töö tuhasisalduse tulemustega.



**Joonis 11.** Pihvide keskmised tuhasisaldused

Märkused:

1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.
2. Erinevad väiketähed (a, b, c) tähistavad lisandite vahelist statistilist erinevust ( $P < 0,05$ )

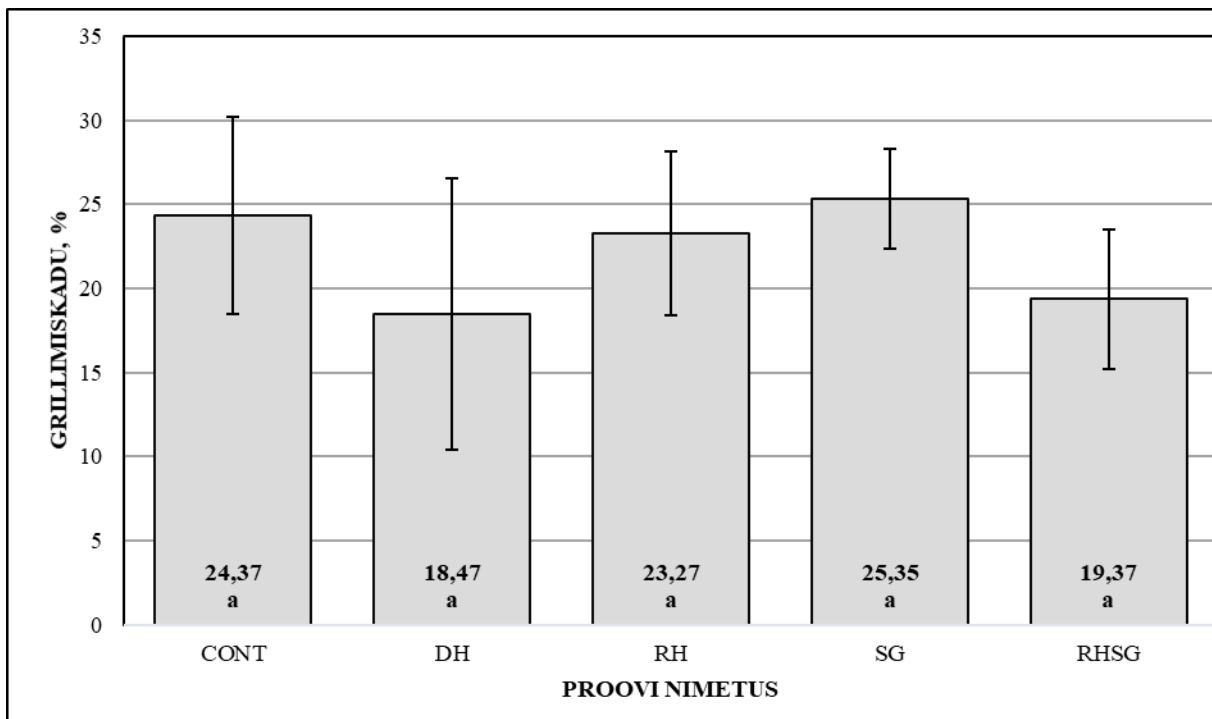
### 3.2. Grillimiskadu

Taimsed lisandid mõjutasid pihvide grillimiskadu (joonis 12). Nelja seeria kolme pihvi alg- ja lõppkaal määrati toatemperatuuril ja massikadu väljendati protsentides.

Väikseimat grillimiskadu näitas DH lisandiga pihvid (18,46%) ning suurimat SG (25,35%) lisandiga pihvid. DH lisandiga pihvide madalat grillimiskadu saab seletada tema kõrge proteiinisaldusega, mis absorbeerib toorainest tugevasti vett. Zajac *et al.* (2019) töid samuti välja, et kanepijahu oma kõrge proteiinisaldusega parandas toodete veehoidmisvõimet.

Longato *et al.* (2017) lisasid burgeripihvidele kõrvitsaseemnetest valmistatud jahu, mis näitasid sarnaseid kuumtöötlemiskadusid.

Hariliku lõhnheina ekstraktiga pihvide grillimiskadu võis olla kontrollproovist suurem, kuna ekstrakt ei sisalda valke ja süsivesikuid ning on seetõttu halva veesidumisvõimega.



**Joonis 12.** Pihvide grillimiskadu

Märkused:

1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.
2. Erinevad väiketähed (a, b, c) tähistavad lisandite vahelist statistilist erinevust ( $P < 0,05$ )

Kontrollproovil oli samuti suur grillimiskadu (24,37%) ning RH ja RHSG tulemused olid vastavalt 23,27% ja 19,37. Statistiliselt olulisi erinevusi ei esinenud ühegi grupi grillimiskao vahel. (Barron *et al.* 2020) uuringus esines väiksem kuumtöötlemiskadu.

Grillimiskao üldtulemust võis mõjutada asjaolu, et viimase katsepartii pihve grilliti topelt, grilliplaadi ebatasasuse tõttu.

Saadud tulemuste põhjal saab väita, et rasvatustatud kanepiseemne (DH) lisamine sealihast pihvidele suurendab väljatulekut.

### 3.3. Värvus

Värvus on oluline lihatoodete kvaliteediparameeter, eriti tarbijate jaoks, kes teevad selle põhjal ostuotsuseid. Taimsed lisandid võivad omada tugevat mõju lihatoodete värvusele ning seda mõju on uuritud ka mitmete teadlaste poolt (Zajac *et al.* 2019; Al-Juhaim *et al.* 2020; Mengali *et al.* 2020). Tabelis 5 on esitatud grillitud pihvide nelja seeria keskväärtused koos arvutatud standardhälbega. Grillitud pihvide värvuse muutused olid tingitud kasutatavate taimsete lisandite enda värvusest.

**Tabel 5.** Grillitud pihvide nelja seeria keskväärtused  $\pm$ standardhälve

Proov	Päev	L*	a*	b*
C	0	75,37 $\pm$ 8,07	9,74 $\pm$ 4,71	35,14 $\pm$ 12,54
DH		72,77 $\pm$ 8,27	10,40 $\pm$ 5,10	35,60 $\pm$ 12,53
RH		70,15 $\pm$ 6,72	10,91 $\pm$ 5,10	37,85 $\pm$ 12,28
SG		65,15 $\pm$ 9,63 #	9,16 $\pm$ 5,35	42,02 $\pm$ 11,86
RHSG		60,94 $\pm$ 10,21 #	9,31 $\pm$ 4,61	43,29 $\pm$ 11,13
C	4	74,68 $\pm$ 7,52	9,12 $\pm$ 3,46	35,79 $\pm$ 13,63
DH		72,04 $\pm$ 11,55	9,56 $\pm$ 4,10	34,44 $\pm$ 12,14
RH		73,34 $\pm$ 7,26	10,35 $\pm$ 5,28	36,35 $\pm$ 12,99
SG		68,40 $\pm$ 7,33 #	8,52 $\pm$ 5,24	39,80 $\pm$ 12,71
RHSG		65,27 $\pm$ 6,12 #	9,00 $\pm$ 5,80	39,48 $\pm$ 13,26
C	8	76,90 $\pm$ 6,53	8,72 $\pm$ 3,86	35,39 $\pm$ 13,62
DH		71,17 $\pm$ 9,97	10,75 $\pm$ 5,23	35,57 $\pm$ 12,03
RH		72,96 $\pm$ 8,10	10,16 $\pm$ 4,94	36,46 $\pm$ 13,04
SG		67,29 $\pm$ 7,41 #	9,35 $\pm$ 5,80	40,38 $\pm$ 12,72
RHSG		65,73 $\pm$ 7,30 #	9,19 $\pm$ 5,72	41,31 $\pm$ 12,18



Proov	Päev	L*	a*	b*
C		79,10±3,90	8,37±3,89	33,32±11,50
DH		74,79±5,28 #	11,11±5,63	34,61±10,82
RH	15	73,89±5,11 #	10,35±5,22	34,37±11,20
SG		69,12±4,08	9,06±5,77	38,64±11,10
RHSG		66,65±8,44 #	8,84±5,00	36,79±9,17
C		75,69±6,94	9,60±4,33	33,60±12,26
DH		74,55±7,82	9,26±4,82	32,75±10,96
RH	21	71,56±5,90 #	11,15±5,61	34,26±11,89
SG		67,97±7,21	8,90±5,41	39,19±10,7
RHSG		62,56±8,49 #	9,02±5,09	37,36±10,49

Märkused:

1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.
2. # – tähistab statistiliselt olulist erinevust ( $P < 0,05$ ) päevasisesel võrdlusel kontrollprooviga

Valmistamise päeval oli kõige suurema heleduse näitajaga C pihvid ja väikseimaga RHSG pihvid (60,94) (tabel 5), mida võis ka eeldada, kuna pihvisegule lisatud taimsete lisandite segu oli kõige tumedam. Punasuse ehk  $a^*$  näitaja oli väikseim SG pihvidel, kuna neil lisati roheline värviga lõhnheina ekstrakti (0,5%), mis näitab, et lisand vähendab liha punakat värvust rohelisema suunas. Kollasuse  $b^*$  näitaja oli kõrgeim RHSG pihvidel (43,29) ja väikseim C pihvil (35,14). RHSG pihvide kollakust mõjutas samuti SG ekstrakt, aga kuna see oli segatud toorproteiiniga ei andnud see enam pihvisegus nii intensiivset rohekat tooni, kui SG pihvidel vaid hakkas domineerima kollasus. Võrreldes SG ja RHSG pihvi  $L^*$  väärtuseid kontrollproovi omadega leiti statistiliselt oluline seos ( $P < 0,05$ ).

Neljandal päeval  $L^*$  näitaja langes kontrollproovis 74,68-le ( $P < 0,05$ ) ja DH pihvil 72,04-le, kuid RH, SG ja RHSG pihvidel see tõusis vastavalt 73,34, 68,40, 65,27 võrreldes 0. päevaga. Värvuse näitaja  $a^*$  langes kõikides proovides.  $b^*$  langes kõikides proovides peale C pihvi (35,79). SG ja RHSG  $L^*$  võrdlus sama säilituspäeva kontrollprooviga andis statistiliselt olulise erinevuse ( $P < 0,05$ ). Antud seosest võib järeldada, et SG ekstrakt mõjutab heleduse näitajat toote nelja päevasel säilitamisel.

Peale kaheksa päevast säilitamist L\* näitaja tõusis endiselt C – (76,90) ja ka RHSG pihvis (65,73) ning DH, RH, SG proovides langes vastavalt 71,17, 72,96, 67,29. Näitaja a\* tõusis kõikides proovide peale C – (8,72) ja RH proovi (10,16). Näitaja b\* suurenes kõigis proovides peale C pihvi (35,39). Leiti statistiliselt oluline erinevus ( $P < 0,05$ ) võrdlusel kontrollprooviga SG ja RHSG pihvide L\* näitajate vahel.

Samuti on tabelis näha, et 15. päeval L\* näitaja tõusu kõikides C – 79,10, DH – 74,79, RH – 73,89, SG – 69,12, RHSG pihvides 66,65. Statistiliselt erinevaks ( $P < 0,05$ ) saab nendest pidada DH, RH ja RHSG pihvide tulemusi võrdlusel kontrollprooviga. Näitaja a\* väärtus tõusis DH – (11,11) ja RH (10,35) pihvides, kuid teistes langes. Näitaja b\* tulemus oli endiselt langustrendis viieteistkümnendal säilituspäeval kõikides proovides.

Viimasel katsepäeval on näha L\* näitaja langust kõikides C – (75,69), DH – (74,55), RH – (71,56), SG – (67,97), RHSG (62,56) pihvides võrreldes 15 päevaga. Leiti statistiliselt oluline erinevus ( $P < 0,05$ ) võrdlusel kontrollprooviga RH ja RHSG pihvide L\* näitajate vahel. Näitaja a\* langes veel DH – (9,26), SG (8,90) proovides ning tõusis kontrollproovis (9,60) ja RH (11,15) pihvides võrreldes tulemusi 15. ja 8. päevaga. B\* näitaja langes veel C, DH, RH ja RHSG pihvidel ja tõusis SG proovil (37,36).

Kõik käesolevas töös kasutatud taimsed lisandid olid erinevates rohelistes toonides ja erineva intensiivsusega, tõenäoliselt tingituna klorofüllisisaldusest, näiteks SG tumeroheline, RH heledam roheline, samas kui DH lisandi kui kõige heledama koostisosa roheline värvus oli vähem märgatav. Saadud värvuse tulemuste põhjal saab järeldada, et L\* näitaja tõuseb aja jooksul kõikides proovides ning seejärel hakkab langema 15. päeval. Näitaja a\* ehk punasuse kõige väiksemaid muutuseid näitas DH ja RH pihvid, antud pihvides puudus ka komponent, mis oleks võinud mõjutada seda näitajat. Kõige heledam pihv oli katseperioodi vältel kontrollproov, mis on ka loogiline, kuna sinna ei lisatud värvi muutvaid lisandeid. Suurima punasuse näitajaga oli RH pihv ning kollasuse näitajaga SG, tulemusi mõjutasid lisandite enda värvused.

RH lisandiga pihvile lisatud lisandi värv oli küllaltki neutraalne, millest võiks järeldada, et toorproteiini lisamine suurendab punasuse näitajat. Kõikide pihvide värvuse näitajad langesid 21-ks päevaks võrreldes valmistamise päevaga. Suurimat mõju avaldas värvusele SG ja RHSG ekstraktid heledusele.

Al-Juhaimi *et al.* (2020) uuringus lisati veiselihast pihvidele ahvileivapuu seemneekstrakti, mille enda värvus on hele-beežikas. Antud uuringu värvuse tulemustes on näha, et küllaltki hele ekstrakt ei mõjuta heleduse tulemusi, millest saab järeldada, et ekstrakti värvus mõjutab otseselt pihvi välimust ja värvust.

### 3.4. Vee aktiivsus

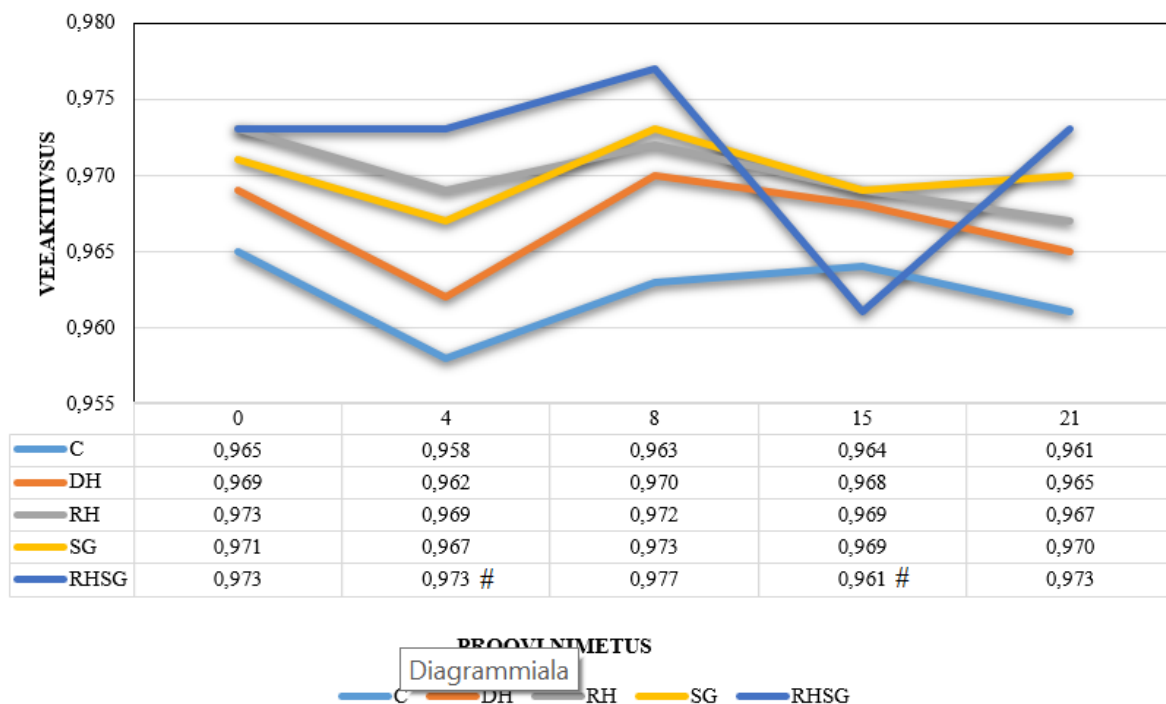
Vee aktiivsus on oluline toodete stabiilsuse näitaja säilivusaja jooksul. Valmistamise päeval olid suurima vee aktiivsuse (aw) näitajaga RH (0,973) ja RHSG (0,973) lisandiga pihvid (joonis 13). Madalaim aw näitaja oli kontrollproovil (0,965) ning DH ja SG vastavalt 0,969 ning 0,971.

Kontrollproovi aw 4. päeval järsult langeb 0,958 ( $P > 0,05$ ) peale ning tõuseb uuesti kuni 15. katsepäevani ja hakkab seejärel langema. Kontrollproovi 21. päeva keskmine vee aktiivsus oli 0,962, kõikides vahemikus 0,958 – 0,965.

DH lisandiga pihvides on näha sarnast aw langust ja seejärel tõusu. DH vee aktiivsus valmistamise päeval oli 0,969, mis langes 21 päeva jooksul 0,965 peale. Suurim aw kõikumine toimus 4. ja 8. katsepäeva vahel, kui näit tõusis 0,962-lt-0,970-ni.

RH lisandiga pihvidel oli aw valmistamise päeval 0,973 ja langes viimaseks säilitamise päevaks 0,967 peale. Samuti on näha valmistamise ja 4. päeva vahel langust 0,973 kuni 0,969 ning seejärel tõusu. RH lisandiga pihvide aw näitaja on kõige stabiilsem võrreldes teiste proovidega.

SG lisandiga pihvide aw näitajate juures on näha sarnast langust ja tõusu eelnevate proovidega. Valmistamise päeval oli aw väärtuseks 0,971 ning katseperioodi viimaseks päevaks 0,970. Kogu katseperioodi vältel kõikus vee aktiivsus 4. päeva 0,967 kuni 8. päeva 0,973 vahel. Antud tulemuste põhjal võib pidada SG ekstrakti samuti heaks aw stabilisaatoriks.



**Joonis 13.** Pihvide vee aktiivsuse näitajad läbi katseperioodi

Märkused:

1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.
2. # – tähistab statistiliselt olulist erinevust ( $P < 0,05$ ) päevasisesel võrdlusel kontrollprooviga

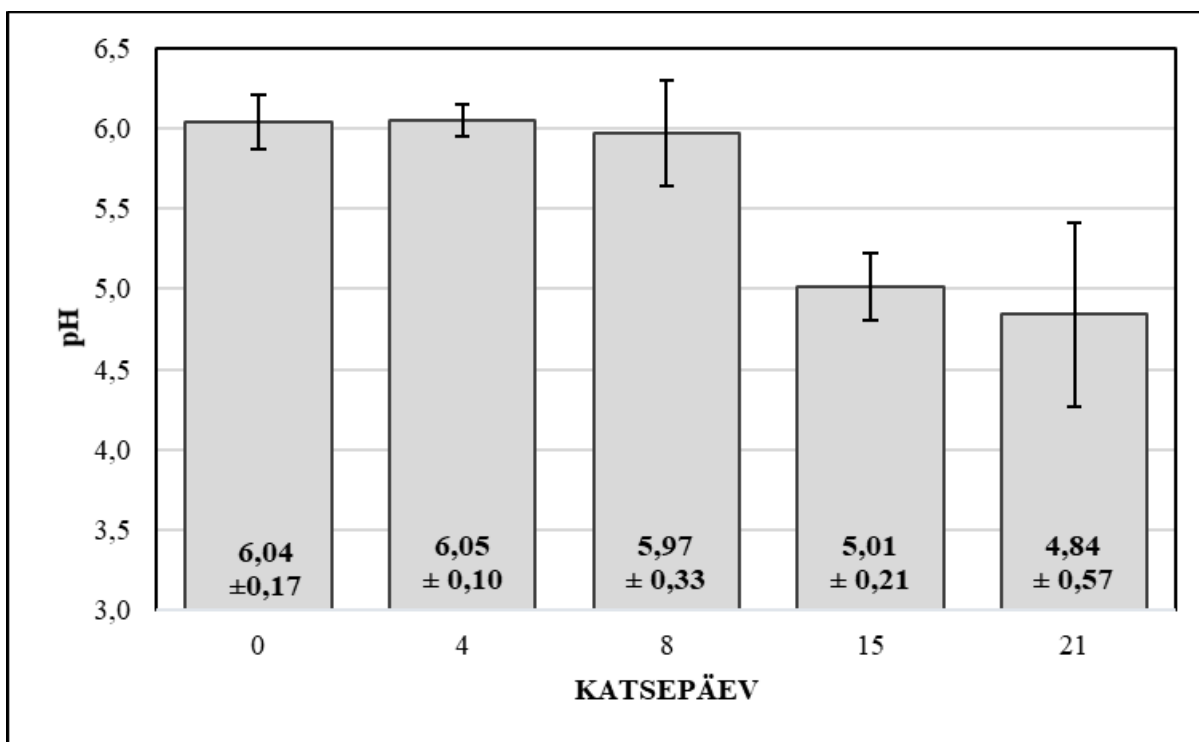
RHSG lisandiga pihvide aw tulemustes on näha, et valmistamise ja 21. päeva keskmine tulemus on sama (0,973) sarnaselt nagu SG proovis on esimese ja viimase päeva näitaja sama või ligilähedal sellele. Kõige suurem muutus toimus 8. ja 21. päeva vahel, kui näitaja langes 0,977- lt 0,961- le.

Neljast lisandiga pihvist kõige stabiilsemad vee aktiivsuse näitajad olid RH pihvil ja ka RHSG lisand andis häid tulemusi. Päevade siseselt võrreldi lisanditega pihvide tulemusi kontrollprooviga ning saadi statistiliselt oluline ( $P < 0,05$ ) erinevus RHSG lisandiga pihvidel 4. ja 15. päeval. Vee aktiivsus on oluline toote säilitamisel, mida väiksem on aw, seda kauem see säilib. Suurema aw juures on vabavee hulk suurem, mis võimaldab elutegevust mikroobidel, kuid madalama aw juures on vabavett vähem ning mikroobidel ei ole võimalik kiirelt paljuneda.

### 3.5. pH

pH on oluline kvaliteediparameeter näitamaks ja mõjutamaks ohutust, tehnoloogilisi ja sensoorseid omadusi.

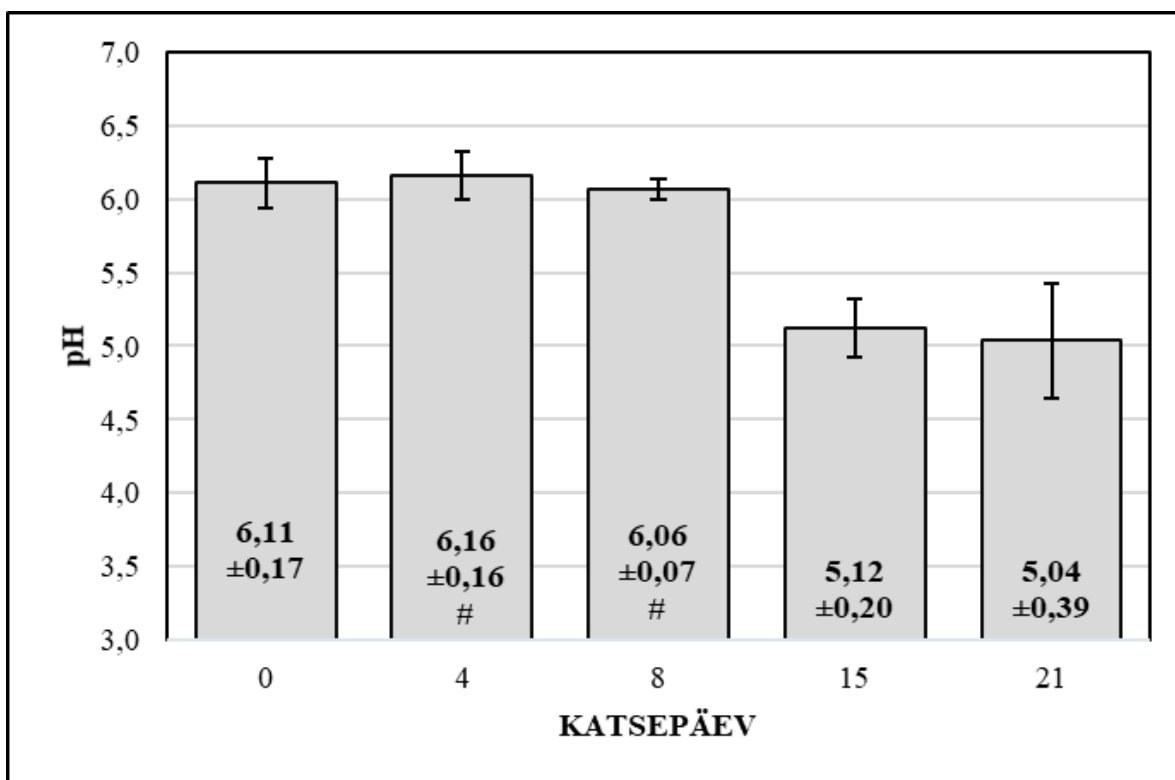
Valmistamise päeval leiti lisandita pihvi ehk kontrollproovi pH väärtuseks 6,04 (joonis 19), mis langes viimaseks katsepäevaks 4,84-ni ( $P > 0,05$ ), mida võib pidada mõõdukalt happeliseks. Kogu katse vältel pH langes, 8. ja 15. päeva vahel toimus hüppeline pH langus 5,97-lt 5,01-le.



**Joonis 19.** Kontrollproovi pH muutus

Joonisel 20 on näha DH lisandiga pihvi pH-väärtuse stabiilsust kuni 8. päevani ning seejärel kiiret langust 6,06-lt kuni 5,12-ni ( $P > 0,05$ ). Valmistamise päeval saadi pH väärtuseks 6,11, mis langes katseperioodi lõpuks 5,04-le. DH lisandiga pihvi ja kontrollproovi pH tulemuste päevade vahelisel võrdlusel leiti statistiliselt olulised erinevused ( $P < 0,05$ ) 4., ja 8 päeva juures.

Kanepiseemne lisanditega pihvide pisut kõrgem pH väärtus võib olla tingitud kanepis väikeses koguses leiduvatest puhver tüüpi ühenditest

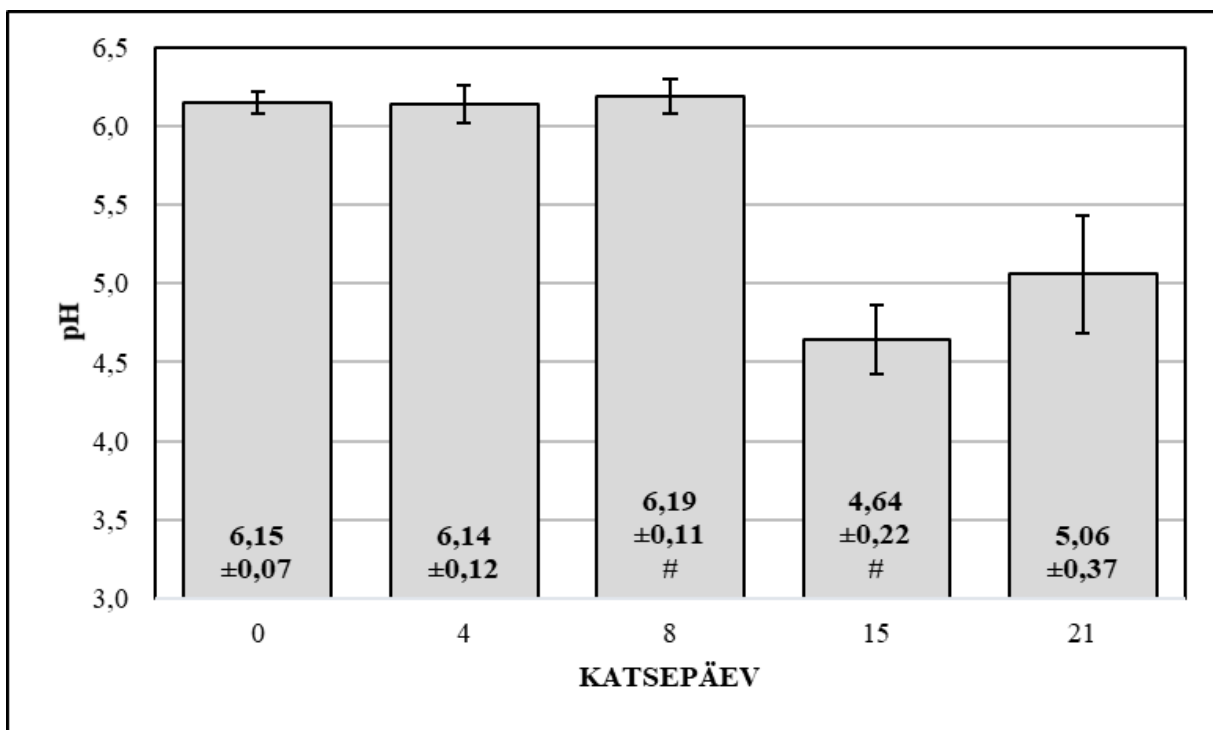


**Joonis 20.** DH lisandiga pihvi pH muutus

Märkused:

1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.
2. # – tähistab statistiliselt olulist erinevust ( $P < 0,05$ ) päevasisesel võrdlusel kontrollprooviga

Joonisel 21 on näha RH pihvi tulemusi, valmistamise päeval fikseeriti RH pihvi pH näiduks 6,15, mis langes 21. päevaks 5,06-le. Suur pH langus toimus 8. ja 15. päeva vahel, kus see langes 6,19-lt kuni 4,64-ni ( $P > 0,05$ ). Tulemust 4,64 saab pidada mõõdukalt happeliseks sarnaselt kontrollprooviga. Võrdlusel kontrollprooviga leiti statistiliselt oluline erinevus ( $P < 0,05$ ) nende 8. ja 15. päeva tulemuste vahel. RH kõrgemat pH tõusu 8-päeval võib selgitada happeliste oksüdatsiooniproduktide tekkega seoses jääkanepiõli sisaldusega. Choi *et al.* (2010) uurisid sojaõli mõju pH-le frankfurteri vorstidel ning selgus, et sojaõli tõstis pH-d

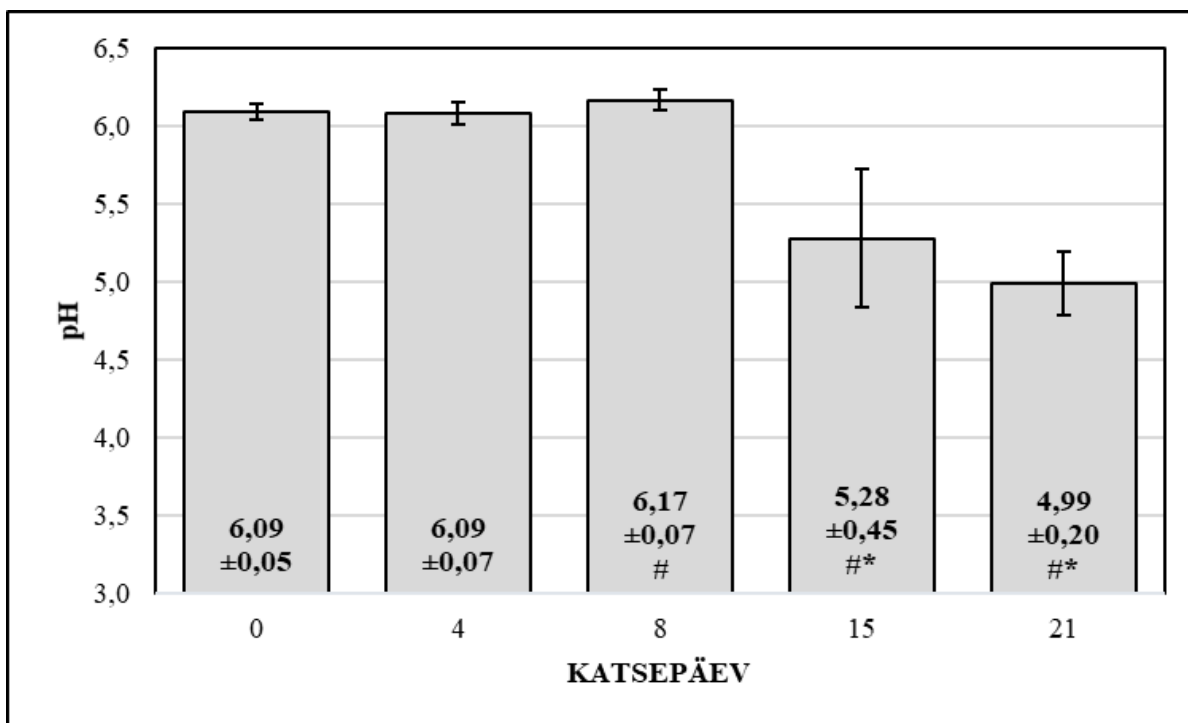


**Joonis 21.** RH pihvi pH muutus

Märkused:

1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.
2. # – tähistab statistiliselt olulist erinevust ( $P < 0,05$ ) päevasisesel võrdlusel kontrollprooviga

SG lisandi pH jäi kogu katse vältel vahemikku 6,09–4,99 (joonis 22). SG lisandiga pihvide päevade vahelisel pH tulemuste võrdlusel leiti erinevus 15. ja 21. vahel, mis näitab, et SG ekstrakt mõjutab pH langust. Võrdlusel kontrollprooviga leiti statistiliselt oluline erinevus ( $P < 0,05$ ) nende 8. ja 15. päeva tulemuste vahel.



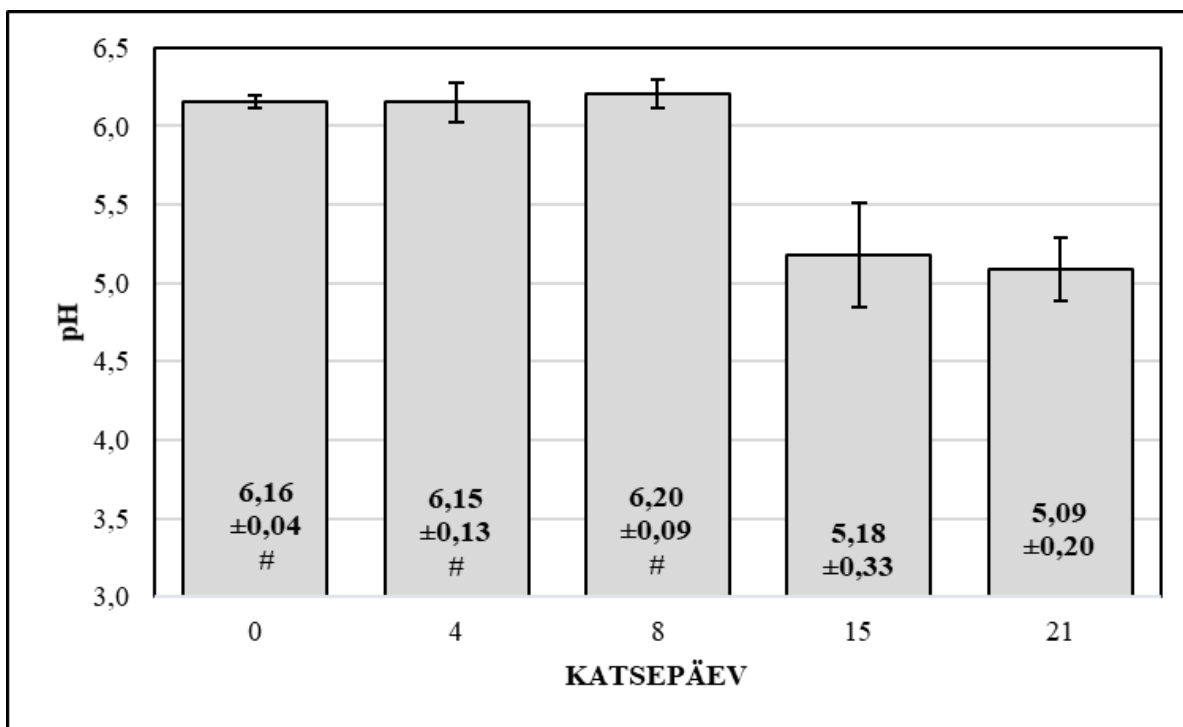
**Joonis 23.** SG lisandiga pihvide pH muutus

Märkused:

1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.
2. # – tähistab statistiliselt olulist erinevust ( $P < 0,05$ ) päevasisesel võrdlusel kontrollprooviga
3. \* – tähistab statistiliselt olulist erinevust ( $P < 0,05$ ) päevasisesel võrdlusel kontrollprooviga

RHSG lisandiga pihvide pH on stabiilne 8. päevani seejärel langeb uuesti (joonis 24). Valmistamise päeval fikseeriti RHSG pihvide pH-ks 6,16 ning 8. päeval 6,20. Peale seda hakkas pH langema ja saavutas oma miinimumi viimasel päeval 5,09. Võrdlusel kontrollprooviga leiti statistiliselt olulised erinevused ( $P < 0,05$ ) 0., 4. ja 8. päeva tulemuste vahel.





**Joonis 24.** RHSG pihvide pH muutus

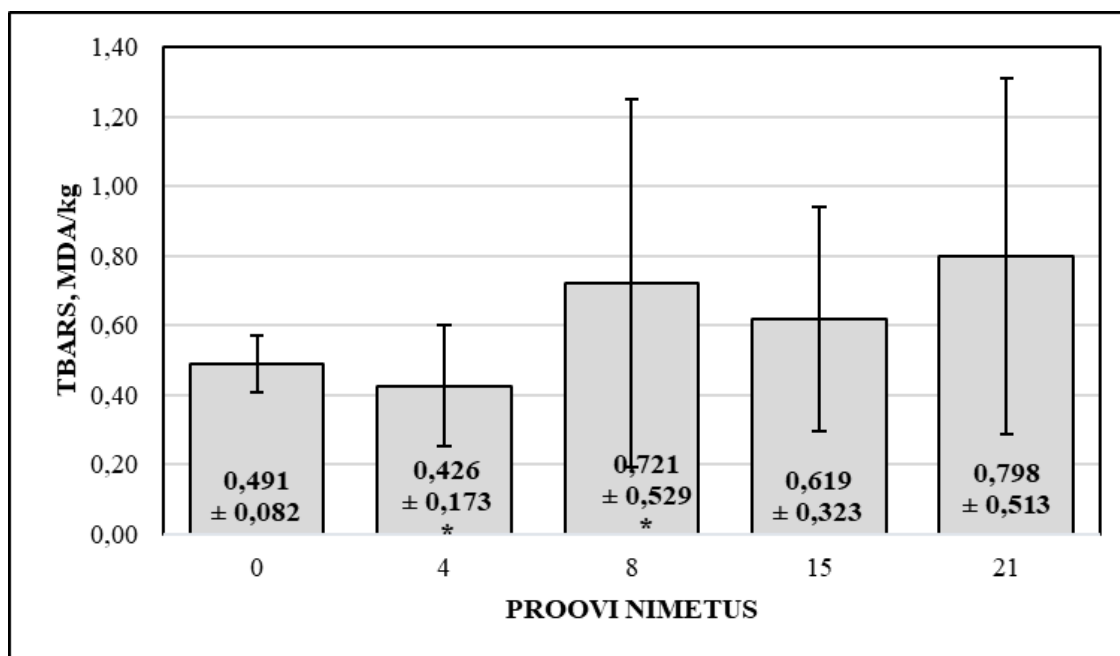
Märkused:

1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.
2. # – tähistab statistiliselt olulist erinevust ( $P < 0,05$ ) päevasisesel võrdlusel kontrollprooviga

Kõik proovid näitasid ajas pH stabiilsust kuni 8. säilitamispäevani, pärast seda järsku langust, mida võis põhjustada anaeroobsete bakterite arvu suurenemine, mis tekitab happelise keskkonna. Võrreldes tulemusi (Antonini *et al.* 2020), kus kasutati ekstraktidena õlivalvei ehk tšiiaseemneid ja goji marja püreed, on pH näitajad mõnevõrra kõrgemad, kui antud uuringus, kuid mitte oluliselt. Uuringus, kus lisati pihvidele nelgi ekstrakti (Zahid *et al.* 2020), pH väärtused langesid ajas sarnaselt käesoleva tööga.

### 3.6. Oksüdatsiooniate

Oksüdatsiooni kiirust hinnati rasvade oksüdatsioonil tiobarbituurhappega (TBARS) reageerivate ainete hulga alusel. MDA (maloondialdehüüd) kui väga toksiline ühend moodustub oksüdatsiooniprotsessi käigus ja selle taset tuleb kontrollida säilitamise jooksul sensoorsest aspektist ja ka tarbijate tervise seisukohalt lähtuvalt (Zajac *et al.* 2012). Lisaks on MDA laialdaselt kasutatav liha oksüdatsioonimarker (Barriuso *et al.* 2013). Joonisel 14 on näha, et esimesel päeval oli oksüdatsioon 0,491 mg/kg, mis tõusis 21 päevaks 0,798 mg/kg juurde. Kontrollproovi näitajad olid ka kõige suuremad võrreldes teiste taimsete lisanditega pihvide tulemustega. Omavahelist olulist erinevust näitasid ( $P < 0,05$ ) päevade vahelisel võrdlusel 4. ja 8. päev, kus tulemused olid vastavalt 0,426 mg/kg ja 0,721 mg/kg, antud katsepäevade vahel oli ka kõige suurem selle näitaja tõus.

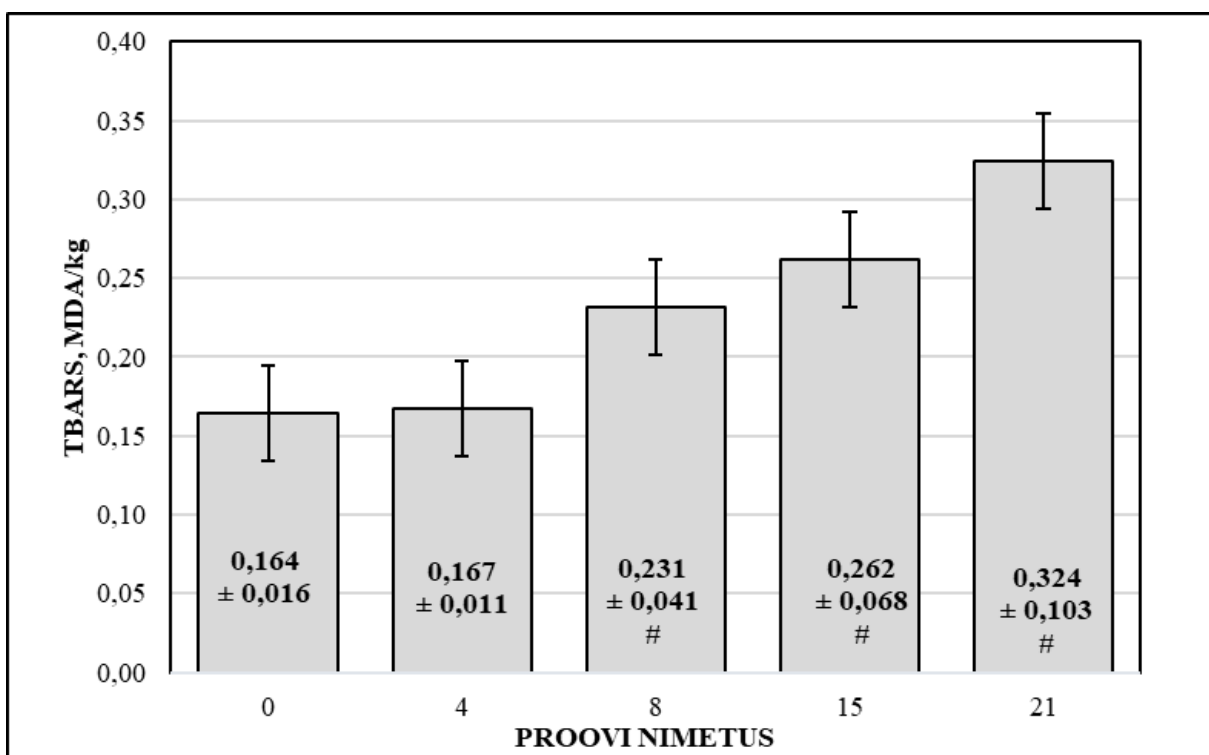


**Joonis 14.** Kontrollpihvide TBARS väärtuste muutused säilivusaja jooksul

Märkus:

1. \* – tähistab statistiliselt olulist erinevust ( $P < 0,05$ ) päevasisesel võrdlusel kontrollprooviga

DH lisandiga pihvide oksüdatsioon tõusis järkjärguliselt katseperioodi vältel (joonis 15). Kogu katseperioodi jooksul, 0 päev (0,164 mg/kg) kuni 21. päeva (0,324 mg/kg) tõusis DH lisandiga pihvide oksüdatsioon, mis oli poole võrra väiksem, kui kontrollproovis. DH pihvide 8., 15. ja 21. analüüsipäeva oksüdatsiooni tulemuste võrdlusel kontrollprooviga leiti statistiliselt oluline erinevus ( $P < 0,05$ ), mille põhjal saab järeldada, et DH ekstrakt vähendab pihvis toimuvat oksüdatsiooni.



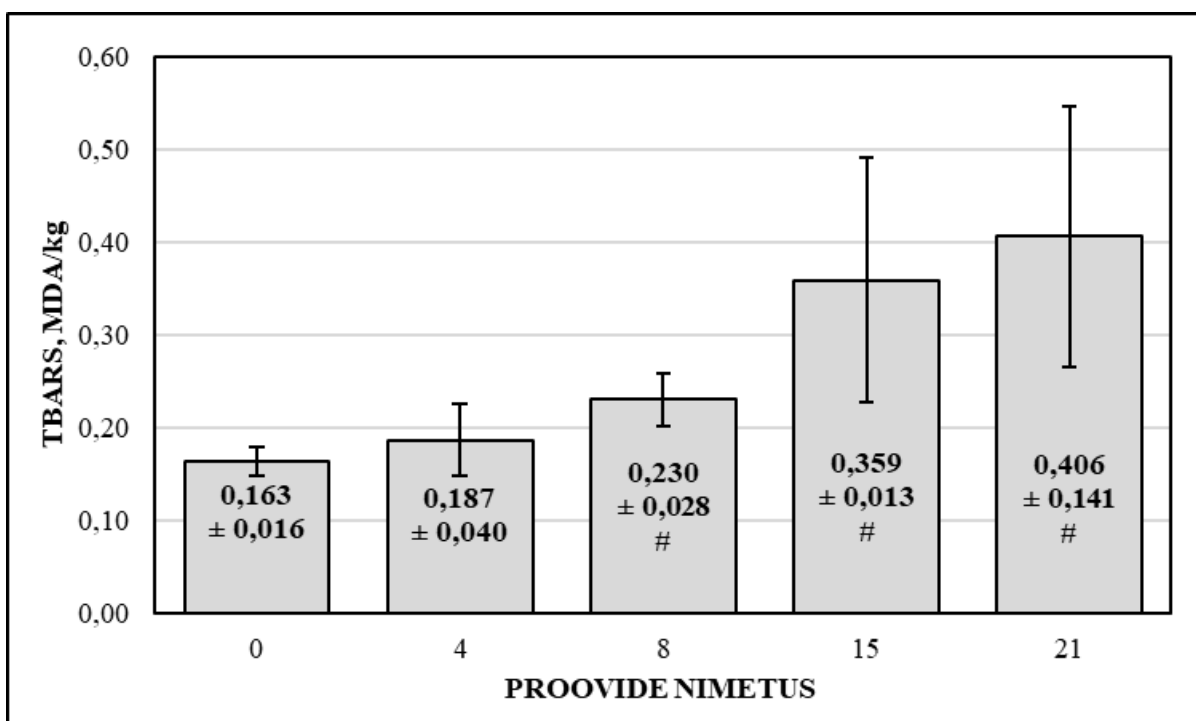
**Joonis 15.** DH lisandiga pihvide TBARS väärtuste muutused säilivusaja jooksul

Märkus:

1. # – tähistab statistiliselt olulist erinevust ( $P < 0,05$ ) päevasisesel võrdlusel kontrollprooviga

RH lisandiga pihvide oksüdatsioon (joonis 16) oli sarnane kuni 8. katsepäevani DH lisandiga pihvidega, kuid 15. päeva juures oli näha suuremat tõusu olles tõenäoliselt tingitud suuremast küllastumata rasvhapete sisaldusest. Rasva oksüdatsioon tõusis ajas järkjärguliselt.

Valmistamise päeval (0 päev) oli RH oksüdatsiooni väärtus 0,163 mg/kg ning katseperioodi lõpuks 0,406 mg/kg. Hüppelist tõusu on näha 8. ja 15. katsepäeva vahel, kui näitaja tõusis 0,230-lt mg/kg 0,359-ni mg/kg. Pihvidepõhisel päevade vahelisel võrdlusel leiti kõige suurem erinevus 4., 8. ja 15. päeva vahel ( $P < 0,05$ ), mis kinnitab, et just siis toimus kõige suurem oksüdatsiooni tõus.



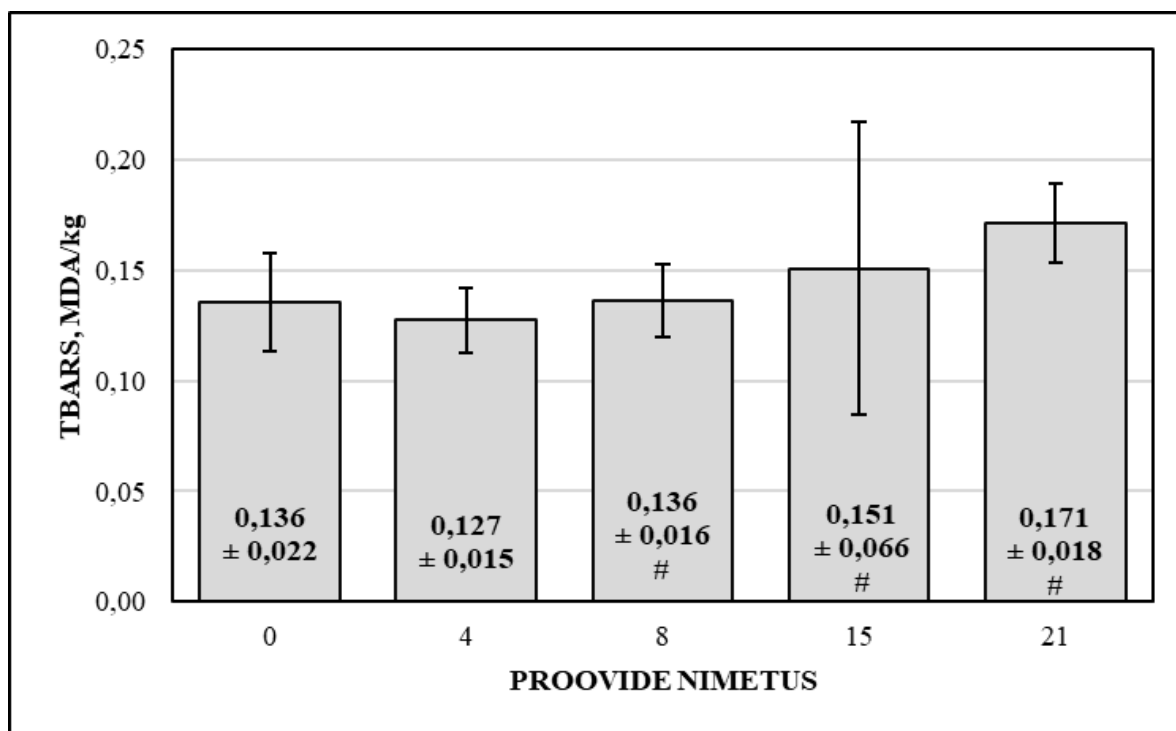
**Joonis 16.** RH lisandiga pihvide TBARS väärtuste muutused säilivusaja jooksul

Märkus:

1. # – tähistab statistiliselt olulist erinevust ( $P < 0,05$ ) päevasisesel võrdlusel kontrollprooviga

SG ekstraktiga pihvide rasva oksüdatsiooni tulemuste (joonis 17) põhjal on näha, et ajas selle näitaja tõuseb, kuid mitte märkimisväärselt. SG ekstraktiga pihvide oksüdatsioon on kõige väiksem võrreldes teiste pihvidega, seega on ilmne, et SG kui tugev antioksüdant stabiliseeris tootes TBARSi moodustumise säilivusaja jooksul. Valmistamise päeval saadi oksüdatsiooni tulemuseks 0,136 mg/kg, mis katseperioodi viimaseks päevaks tõusis 0,171-ni mg/kg. Katse 4. päeval on näha väikest langust 0,127-le mg/kg ning seejärel uuesti tõusu 0,136-le mg/kg 8.

päevaks. SG ekstraktiga pihvide vahelisel võrdlusel kontrollprooviga leiti statistiliselt olulised erinevused ( $P < 0,05$ ) 8., 15. ja 21. analüüsipäeva vahel.

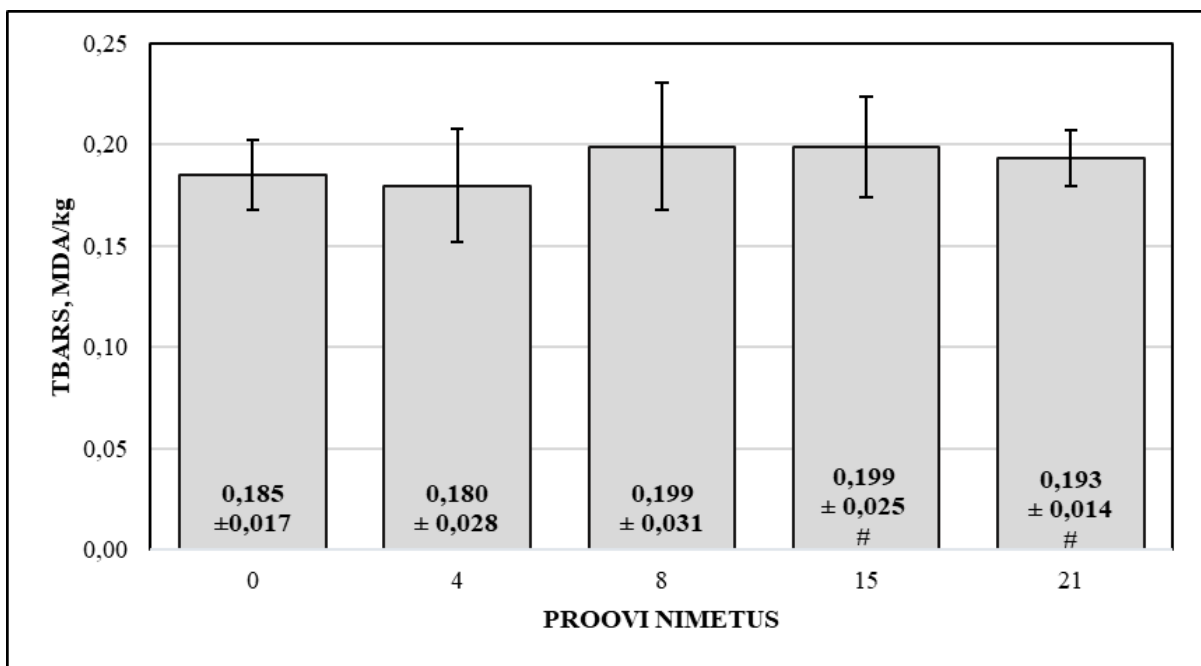


**Joonis 17.** SG lisandiga pihvide TBARS väärtuste muutused säilivusaja jooksul

Märkus:

1. # – tähistab statistiliselt olulist erinevust ( $P < 0,05$ ) päevasisesel võrdlusel kontrollprooviga

RHSG lisamine pihvidele andis samuti häid tulemusi ja kinnitab samuti püstitatud hüpoteesi, et toore kanepiseemne preskoogi kasutamine leevendab oksüdatsiooniprotsesse, valmistamise päeval saadi tulemuseks 0.185 mg/kg ja 21. päeval 0.193 mg/kg (joonis 18). Joonisel on veel näha, et näit oli samal tasemel 8. ja 15. päeval vastavalt 0,199 mg/kg, mis oli ühtlasi ka kõige kõrgem tulemus, mis seejärel langes. RHSG lisandiga pihvide võrdlusel kontrollprooviga leiti statistiliselt olulised erinevused ( $P < 0,05$ ) 15. ja 21. analüüsipäeva vahel. Antud tulemuste põhjal saab järeldada, et RHSG toimib antioksidandina ning avaldab mõju kõige tugevamalt just säilitusperioodi lõpus.



**Joonis 18.** RHSG lisandiga pihvide TBARS väärtuste muutused säilivusaja jooksul

Märkus:

1. # – tähistab statistiliselt olulist erinevust ( $P < 0,05$ ) päevasisesel võrdlusel kontrollprooviga

Saadud tulemuste põhjal saab järeldada, et ilma lisanditeta pihvide oksüdatsiooniasete oli kõige suurem ja madalaima näitajaga oli kogu katse vältel pihvidel SG ja RHSG, mis tähendab, et antud taimsed lisandid toimisid antioksüdantidena. DH ja RH näitasid mõnevõrra kõrgemat oksüdatsioonitaset.

Võrreldes SG ekstraktiga pihvide oksüdatsiooni näitajaid Al-Juhaimi *et al.* (2020) uuringuga, kus lisati ahvileivapuu seemneekstrakti kontsentratsiooniga 1%, jäid tulemused vahemikku 0,96 – 1,94 mg MDA/kg. Antud võrdluse põhjal võib pidada saadud tulemusi väga heaks.

Antud töös saadud oksüdatsiooni tulemuste põhjal saab järeldada, et SG ja RHSG on head antioksüdandid ehk töös püstitatud hüpotees (tugev looduslik antioksüdant hariliku lõhnheina ekstrakti näol pidurdab lihatoote oksüdatsiooniprotsesse ning koostoimel rasvatustamata kanepiseemne jahuga leevendab viimase negatiivset toimet oksüdatsioonile) leidis kinnitust.

## 3.7 Sensorse analüüsi tulemused

### 3.7.1 Grillitud pihvide sensorse analüüsi tulemused

Taimsete lisandite koostisosade vastuvõetavate annuste määramine ja nende mõju erinevatele organoleptilistele omadustele on oluline küsimus ja väljakutse. Kuigi ka tänapäeval on tarbijate eelistused tugevamalt seotud taimset päritolu koostisosade tervislikkusega, pole toidu sensorised omadused nende valiku määramisel mingit tähtsust kaotanud. Seetõttu oli valitud taimsete lisandite mõju hindamine sealihast pihvide sensorsele kvaliteedile selle uuringu üheks oluliseks ülesandeks. Sel eesmärgil hinnatigi taimsete lisandite mõju tooreste ja grillitud sealihast pihvide sensorsetele omadustele.

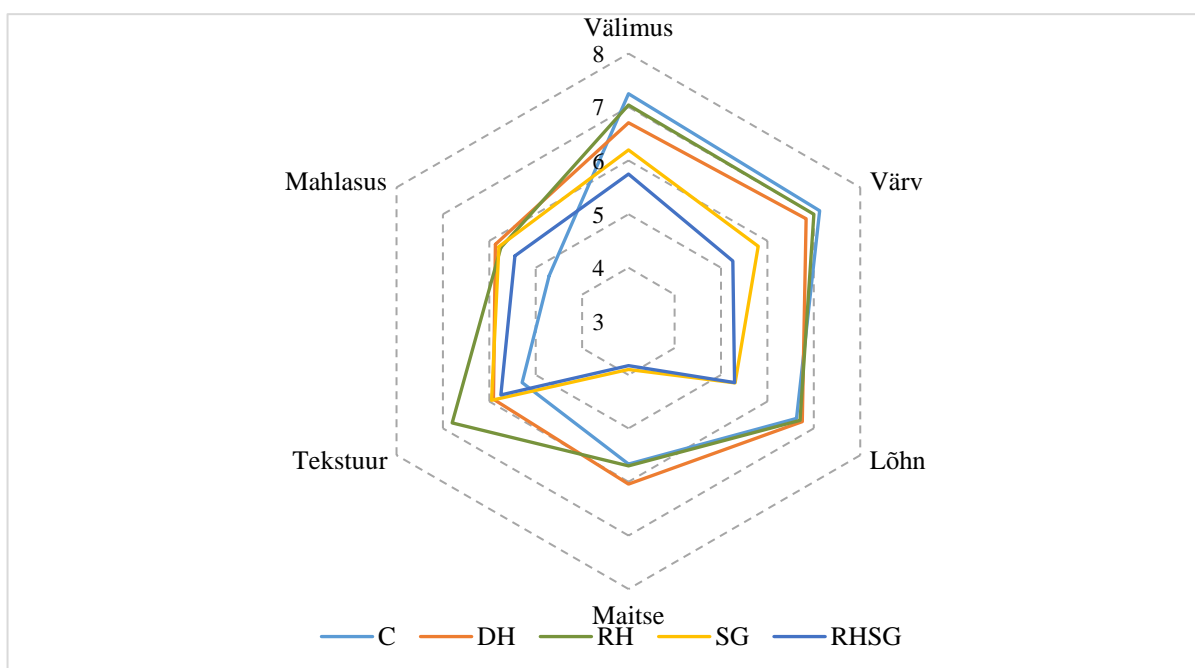
Kõige parema välimusega pihviks peeti kontrollproovi ( $P < 0,05$ ) võrreldes lisanditega pihvidega (joonis 25), mis sai kõige rohkem hindeid 8 ehk väga hea. Choi *et al.* (2010) uuringus pidasid hindajad samuti välimuse poolest parimateks kontrollproove, mis on tingitud sellest, et lisandid annavad pihvile ebahariliku värvuse. loomulikuks.

RH lisandiga pihvid said kõige parema üldise välimuse hinde 0. (lisa 2 joonis 27) ja 4. katsepäeval (lisa 2 joonis 28) vastavalt 7,9 ja 7,6 punkti ning 8. päeval arvati, et ilma lisanditeta pihv on parima välimusega. Väikseima keskmise hinde sai RHSG lisandiga pihv kogu katseperioodi vältel 5,8.

Kokkuvõttes parimaid värvuse tulemusi andis kontrollproov 7,1 ja RH 7. Meeldivaima värvuse tulemused andis RH lisandiga pihv 0. ja 4. päeval (lisa 2 joonis 28) vastavalt 7,7 ja 7,6, kuid 8. päeval hinnati kontrollproovi 6,1 värvust paremaks. Visuaalselt hinnatav värvuse parameeter katse kestel oluliselt ei muutunud. Kontrollproovi võib pidada värvuselt kõige atraktiivsemaks tulemusega 7,1. Pihvidel, millele oli lisatud SG ja RHSG lisandit täheldati intensiivset rohelist värvust kõikidel analüüsipäevadel, mida tihti peale peetakse eemaletõukavaks. SG ja RHSG lisandiga pihvide võrdlusel kontrollprooviga leiti statistiliselt olulised erinevused ( $P < 0,05$ ), mis tõestab, et antud lisandid mõjutavad negatiivselt värvuse hinnanguid. Antud põhjusel oli RH ja kontrollproovi pihvide paremat värvuse tulemust ka oodata.

Lõhna omaduste poolest meeldis degusteerijatele enim DH ja RH lisandiga pihvid. Kõige vähem meeldis hindajatele SG ekstraktiga pihvid, kuna valmistamise- kui ka 8. analüüsipäeval SG pihvidel tunti nii heina- kui ka rohu lõhna. SG ja RHSG katseperioodi keskmine lõhna hinne oli 5,3, võrdluseks kontrollprooviga leiti oluline erinevus ( $P < 0,05$ ). RHSG proovidel oli heina lõhn nõrgem.

Kogu katseperioodi jooksul peeti parimaks pihviks maitseomaduste poolest DH lisandiga pihvi keskmise hindegaga 6,1 (joonis 25) ning kõige kehvema keskmise hindegaga pihv oli RHSG, mille keskmine hinne oli 3,8. RH lisandiga pihvide maitse hinnang oli samuti võrreldes teiste proovidega hea, mis sai esimesel päeval keskmiseks tulemuseks 5,5 ja viimasel 6,0 viimase päeva vahele. Esimesel degusteerimise päeval tunti DH pihvides spetsiifilist maitset, mis kohati meenutas päiklit. Kaheksandal katsepäeval toodi välja head kanepi maitset. SG pihvides täheldati 0. katsepäeval nii heina maitset, kui ka intensiivset mõrkjat rohu maitset. 8. päeval täheldati, et pihvil on ikka mõru maitse. RHSG pihvides tundsid degustaatorid vähem mõrkjat maitset, kuid seda peeti ikkagi harjumatuks.



**Joonis 25.** Grillitud pihvide hindamise kokkuvõtlik joonis säilitus päevade 0-8 keskmine

Märkused:

1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.

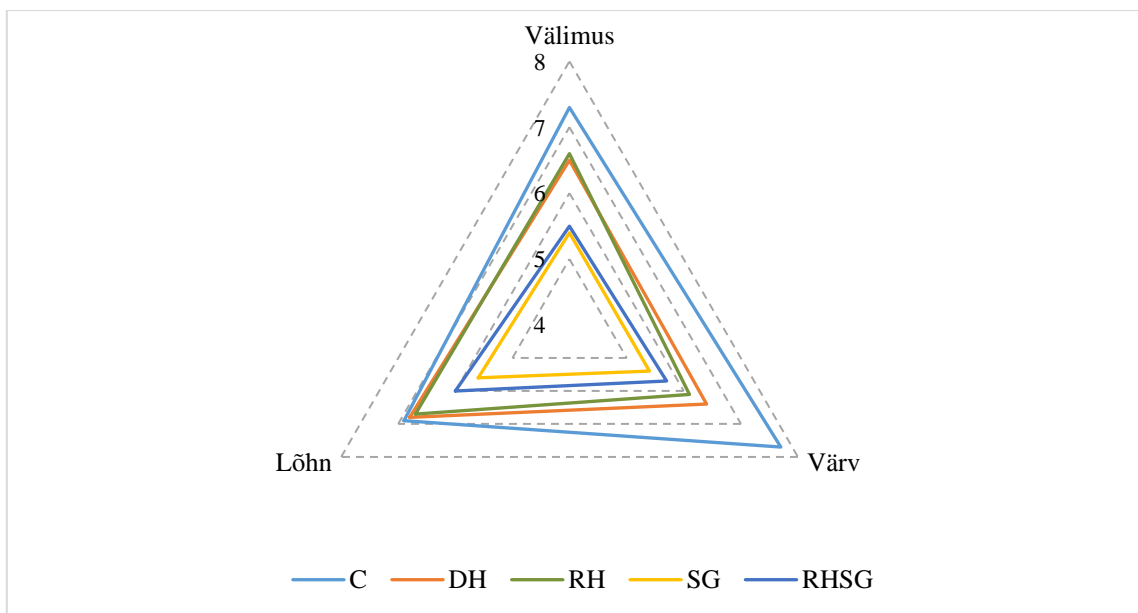


Kõige kehvema tekstuuri näitajatega olid kontrollproovi pihvid ( $P < 0,05$ ) võrdlusele lisanditega grillitud pihvidega, mis said 8. päeval keskmiseks hindeks 5,0 ja 4. päeval 5,4. Lisaks tõi üks degusteerija välja, et pihvid on liiga kuivad, mida võis põhjustada pihvide topelt grillimine. Parima tekstuuri hinde sai kuumtöödeldud SG ekstraktiga pihv (5,9 punkti), samuti peeti heaks RH pihvide tekstuuri omadusi.

Mahlasuse omadused olid kõige kehvemad kontrollproovil ( $P < 0,05$ ) võrreldes lisanditega pihvidega (joonis 25), kus 0. päeval anti hinnang 2 (väga halb) kahel korral. Kõige parema mahlakuse tulemuse sai DH lisandiga pihv. SG ekstraktiga pihv näitas ajas paremaid mahlakuse omadusi. Lisaks tõi üks degustaator välja SG ekstraktiga pihvide juures selle mahlasuse.

### **3.7.2. Toorete pihvide sensoorse analüüsi tulemused**

Kuumtöötlemata pihvide puhul peeti kõige paremaks välimuseks ilma lisanditeta ( $P < 0,05$ ) pihve võrdlusele lisanditega pihvidega, kus neid hinnati 0. päeval 7,4-ga (lisa 2 joonis 30) ja 4. päeval 7,1-ga (lisa 2 joonis 31) ning RH lisandiga pihve keskmise hinnanguga 6,6. Kõige kehvema hinnangu said SG ja RHSG pihvid vastavalt keskmise hinnanguga 5,4 ja 5,5 ehk ka nende pihvide juures peeti värvust eemaletõukavaks.



**Joonis 26.** Toorete pihvide 2 päeva sensoorse hindamise kokkuvõtlik joonis

Märkused:

1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.

Degustaatorid hindasid kõige kõrgemalt kontrollproovi ja DH värvust vastavalt 7,7 ja 6,4 punkti (joonis 26). Kõige kehvema värvuse hinde sai SG ekstraktiga pihv - 5,4 punkti. Kontrollproovi pihvidel märgati roosakat värvust, mida peeti heaks ka 4. katsepäeval. RH pihvide toodi välja kahvatu värvus. SG lisandiga pihvid olid ühe degustaatori arvates eemaletõukavad toorena. RHSG lisandiga pihve peeti kõige tumedamateks. Pihvide värvuste vahe oli tingitud lisandi enda värvist.

Lõhna hinnang oli parim kontrollproovidel (6,9 punkti) kogu katseaja vältel (joonis 26). Kuid RH pihvidel oli samuti hea lõhn 4. katsepäeval viis hindajat andis hindeks 5 (rahuldav), keskmine hinnang 6,5. DH pihvidel oli degustaatorite arvates nõrk jahu lõhn, mida ei peetud ebameeldivaks. Ilma lisandita pihvidel tunti liha lõhna. SG lisandiga pihvidel täheldati kõikidel hindamise päevadel rohu ja heina lõhna. RHSG proovidel toodi välja, et heina ja rohu lõhn on vähem intensiivsem.

Sensoorse hindamise analüüsi päevapõhised joonised on esitatud lisas 2

## JÄRELDUSED JA ETTEPANEKUD

- Uuringu tulemused näitasid, et harilik lõhnhein suurendab pihvides niiskusesisaldust.
- Toorproteiin ning toorproteiini ja lõhnheina ekstraktidega pihvid andsid stabiilsemaid vee aktiivsuse tulemusi, millest võib järeldada, et toorproteiin parandab seda omadust pihvis.
- Kogu katse vältel olid madalaima rasva oksüdatsiooniga hariliku lõhnheina ekstraktiga pihvid ning toorproteiini ja lõhnheina seguga, mis tähendab, et taimsed lisandid toimisid antioksidantidena.
- Kõik proovid näitasid ajas pH-väärtuse langust ning 8. ja 15. päeva vahel hüppelist langust.
- Sensoorsel hindamisel meeldis hindajatele grillitud pihvidest enim välimuselt ja värvuselt lisandita proov ning maitse- ja lõhnaomaduste poolest rasvatustatud kanepiseemne pihv.
- Hariliku lõhnheina lisandiga pihv näitas ajas paremaid mahlakuse omadusi, mida võib seostada sellega, et SG lisand aitab pihvis olevat niiskust paremini siduda.

Töö koostamisel tekkinud mõtted edasiseks uurimiseks ja soovitud tootjatele:

- Uurida, kuidas taimsed lisandid mõjutavad lihatoodete mikrobioloogilist ohutust.
- Uurida taimsete lisandite mõju lihatoodete kiudainete sisaldusele.
- Uurida, millisest kontsentratsioonist alates algab kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu ning lõhnheina positiivne mõju ja kas seeläbi on võimalik sensoorset vastuvõetavust parendada.
- Võtta kasutusele naturaalne lisand, mis aitab lõhnheina ning toorproteiini ja lõhnheina ekstraktide värvi neutraliseerida, et pihvi välimus visuaalselt ei oleks eemaletõukav.

## KOKKUVÕTE

Antud magistritöös anti ülevaade liha, kui toiduaine üldistest teoreetilistest lähtekohtadest, nagu selle tarbimine ja populaarsus, töötlemine, oksüdatsioon, mõju organismile ja ainevahetusele ning võimalikust kantserogeensusest. Lisaks sellele vaadeldi eelnevaid uuringuid, kus oli uuritud taimsete ekstraktide mõju liha kvaliteedile ja oksüdatsioonile. Töö teises pooles selgitati katsete metoodikat ja esitleti saadud tulemusi ning nende põhjal tehtud järeldusi ja analüüse.

Käesoleva magistritöö eesmärgiks oli uurida, milliseid taimseid lisandeid on kasutatud lihatoodetes, milliseid näitajaid analüüsitud ning mis tulemusi selle käigus oli saadud.

Pihvide valmistamiseks kasutati Tartu Rotaks lihapoest ostetud seahakkliha. Pihvide segudele lisati taimseid lisandeid nagu superkriitilise CO<sub>2</sub> ekstraktsioonimeetodiga rasvatustatud kanepiseemne jahu (2%), kanepi toorproteiini (2%) ja harilikku lõhnheina (0,5%) ning toorproteiini ja lõhnheina (vastavalt 1,5+05%) segu. Tulemusi võrreldi kontrollprooviga (pihv ilma lisanditeta).

Grillitud pihvid jahutati toatemperatuurini ja pakendati-MAP pakendusseadmega kasutades modifitseeritud atmosfääri (70% N<sub>2</sub> ja 30% CO<sub>2</sub>). Pakendatud proove säilitati temperatuuril +4 °C kogu säilitamisaja jooksul ning määrati analüüsipäevadel pihvide pH, värvus, oksüdatsioon ja vee aktiivsus.

Tulemustest selgus ja kinnitust said hüpoteesid:

- mehaaniliselt pressitud ja kuivatatud kanepiseemnejahu koostisosadel võib olla negatiivne mõju lihatoodete kvaliteedile seoses küllastumata kanepiõli jääkide oksüdeerumise tõttu, samas kui õlijääkide eemaldamisel superkriitilise CO<sub>2</sub> ekstraheerimisega peaks kõrvaldama oksüdatsiooniga seotud negatiivsed mõjud
- tugev looduslik antioksidant hariliku lõhnheina ekstrakti näol pidurdab lihatoodete oksüdatsiooniprotsesse ning koostoimel rasvatustamata kanepiseemne jahuga leevendab viimase negatiivset toimet oksüdatsioonile.

Töös saadud keemilise analüüsi tulemuste põhjal võib järeldada, et rasvatustamata kanepiseemne jahu ehk kanepi toorproteiin ja harilik lõhnhein suurendavad veidi pihvides olevat niiskusesisaldust. Pihvide niiskusesisalduse näitajate vahel suurt erinevust ei esinenud. Võrreldes lõhnheina ja toorproteiini niiskusesisalduse tulemusi kontrollprooviga leiti, et tulemused on statistiliselt erinevad ( $P < 0,05$ ). Kontrollproovi ja rasvastatud kanepiseemne pihvide valgusisaldus oli suurem kuna kontrollproov ei sisaldanud taimseid lisandeid ja rasvastatud kanepiseemne proovile oli lisatud taimset proteiini kanepi näol. Toorproteiini ja lõhnheina rasvasisaldust võib põhjendada toorproteiini lisamisega kuna lõhnhein ise ei sisalda rasva.

Hariliku lõhnheina ekstraktiga pihvide grillimiskadu võis olla kontrollproovist suurem, kuna ekstrakt ei sisalda valke ja süsivesikuid ning on seetõttu halva veesidumisvõimega. Saadud tulemuste põhjal saab väita, et rasvatustatud kanepiseemne lisamine sealihast pihvidele aitab vähendada pihvide grillimiskadusid.

Kõikidel töös kasutatud taimsetel lisanditel oli rohelised toonid ja erinev rohelisuse intensiivsus, tõenäoliselt tingituna klorofüllisisaldusest. Harilik lõhnhein tumeroheline, toorproteiin heledam roheline, samas kui rasvastatud kanepiseeme kui kõige heledam koostisosa roheline värvus oli vähem märgatav. Saadud värvuse tulemuste põhjal saab järeldada, et heleduse näitaja tõuseb aja jooksul kõikides proovides ning seejärel hakkab langema 15. päeval. Näitaja  $a^*$  ehk punasuse kõige väiksemaid muutuseid näitas rasvastatud kanepiseeme ja toorproteiini pihvid, antud pihvides puudus ka komponent, mis oleks võinud mõjutada seda näitajat. Kõige heledam pihv oli katseperioodi vältel kontrollproov, mis on loogiline kuna sinna ei lisatud värvi muutvaid lisandeid. Suurima punasuse näitajaga oli toorproteiini pihv ning kollasuse näitajaga hariliku lõhnheinaga pihv, tulemusi mõjutasid lisandite enda värvused.

Neljast lisandiga pihvist kõige stabiilsemad vee aktiivsuse näitajad olid toorproteiini pihvil. Päevade siseselt võrreldi lisanditega pihvide tulemusi kontrollprooviga ning saadi statistiliselt oluline ( $P < 0,05$ ) erinevus toorproteiini ja lõhnheina lisandiga pihvidel 4. ja 15. päeval. Vee aktiivsus on oluline toote säilitamisel, mida väiksem on vee aktiivsus, seda kauem toode säilib.

Saadud rasva oksüdatsiooni tulemuste põhjal saab järeldada, et ilma lisandita pihvide ehk kontrollproovi rasva oksüdatsioon oli kõige suurem ja madalaima näitajaga oli kogu katse

vältel lõhnheina ekstrakti sisaldavad pihvid, samuti toorproteiini ja lõhnheina lisandiga pihvid, mis tähendab, et taimsed lisandid toimisid heade antioksidantidena. Rasvatustatud kanepiseemne ja kanepi toorproteiini sisaldavad pihvid näitasid mõnevõrra kõrgemat oksüdatsioonitaset võrreldes hariliku lõhnheina pihvidega, võimalik põhjus võib seisneda proteiinis, mis sisaldub mõlemas lisandis.

Kõik proovid näitasid ajas pH stabiilsust kuni 8. säilitamispäevani, pärast seda järsku langust, mida võis põhjustada anaeroobsete bakterite arvu suurenemine, mis tekitas happelise keskkonna.

Grillitud pihvidest peeti kõige parema välimusega pihviks kontrollproovi ( $P < 0,05$ ) võrreldes lisanditega pihvidega. Samuti peeti kontrollproovi värvuselt kõige atraktiivsemaks. Pihvidel, millele oli lisatud lõhnheina ning toorproteiini ja lõhnheina segu, täheldati intensiivset rohelist värvust kõikidel analüüsipäevadel.

Maitse omaduste poolest meeldisid hindajatele enim rasvastatud kanepiseemne lisandiga pihvid.

Kõige kehvema tekstuuri näitajatega olid grillitud pihvidest ilma lisandita proovid ( $p < 0,05$ ). Lisaks tõi üks degusteerija välja, et pihvid on liiga kuivad. Taimsed lisandid aitavad pihvides paremini vett siduda.

Kontrollproovi pihvidel märgati roosakat värvust, mida peeti heaks ka 4. katsepäeval. Degustaatorid hindasid kõige kõrgemalt toorettest pihvidest kontrollproovi ja rasvastatud kanepiseemne värvust. Kõige kehvema värvuse tulemuse sai lõhnheinaga pihv.

## KASUTATUD KIRJANDUS

- Al-Juhaimi, F., Babbain, I. A., Ahmed, I. A. M., Alsawmahi, O. N., Ghafoor, K., Adiamo, O. Q., & Babiker, E. E.** (2020). Assessment of oxidative stability and physicochemical, microbiological, and sensory properties of beef patties formulated with baobab seed (*Adansonia digitata*) extract. *Meat Science*, 162, 108044.
- Anton, D., Koskar, J., Raudsepp, P., Meremäe, K., Kaart, T., Püssa, T., & Roasto, M.** (2019). Antimicrobial and antioxidative effects of plant powders in raw and cooked minced pork. *Foods*, 8(12), 661.
- Antonini, E., Torri, L., Piochi, M., Cabrino, G., Meli, M. A., & De Bellis, R.** (2020). Nutritional, antioxidant and sensory properties of functional beef burgers formulated with chia seeds and goji puree, before and after in vitro digestion. *Meat Science*, 161, 108021.
- AOAC official Method 2001.11** – „Crude protein in Animal feed, Forage, Grain, and Oilseeds “ ja AACC 46–13- „Crude Protein- Kjeldahl method“.
- Baldwin, D.** (2010) A practical guide to sous vide cooking. Science minded cooks and chefs. [veebileht] <https://www.douglasbaldwin.com/sous-vide.html#Top> (20.05.2021)
- Bandonien, D., Pukalskas, A., Venskutonis, P. R., & Gruzdien, D.** (2000). Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil. *Food Research International*, 33(9), 785–791.
- Barriuso, B., Astiasarán, I., & Ansorena, D.** (2013). A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task. *European food research and technology*, 236(1), 1–15.
- Barrón-Ayala, C. G., Valenzuela-Melendres, M., Camou, J. P., Sebranek, J. G., Dávila-Ramírez, J. L., & Cumplido-Barbeitia, G.** (2020). Pork frankfurters prepared with hydrolyzed whey: Preliminary product quality aspects and inhibitory activity of the resulting peptides on angiotensin-converting enzyme. *Meat Science*, 108111.F
- Cheasley, R., Keller, C. P., & Setton, E.** (2017). Lifetime excess cancer risk due to carcinogens in food and beverages: Urban versus rural differences in Canada. *Canadian Journal of Public Health*, 108(3), e288-e295.
- Choi, Y. S., Choi, J. H., Han, D. J., Kim, H. Y., Lee, M. A., Jeong, J. Y., ... & Kim, C. J.** (2010). Effects of replacing pork back fat with vegetable oils and rice bran fiber on the quality of reduced-fat frankfurters. *Meat Science*, 84(3), 557–563.

- Crini, G., Lichtfouse, E., Chanet, G., & Morin-Crini, N.** (2020). Applications of hemp in textiles, paper industry, insulation and building materials, horticulture, animal nutrition, food and beverages, nutraceuticals, cosmetics and hygiene, medicine, agrochemistry, energy production and environment: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 18, 1451–1476.
- Cunha, L. C., Monteiro, M. L. G., Lorenzo, J. M., Munekata, P. E., Muchenje, V., de Carvalho, F. A. L., & Conte-Junior, C. A.** (2018). Natural antioxidants in processing and storage stability of sheep and goat meat products. *Food research international*, 111, 379–390.
- Dominguez-Hernandez, E., Salaseviciene, A., & Ertbjerg, P.** (2018). Low-temperature long-time cooking of meat: Eating quality and underlying mechanisms. *Meat Science*, 143, 104–113.
- Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., & Lorenzo, J. M.** (2019). A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, 8(10), 429.
- EVS-ISO 1442:1999.** Liha ja lihatooted : niiskusesisalduse määramine. Meat and meat products : determination of moisture content.
- Gustinelli, G., Eliasson, L., Svelander, C., Andlid, T., Lundin, L., Ahrné, L., & Alminger, M.** (2018). Supercritical fluid extraction of berry seeds: chemical composition and antioxidant activity. *Journal of Food Quality*, 2018.
- Helmja, K., Vaher, M., Püssa, T., Raudsepp, P., & Kaljurand, M.** (2008). Evaluation of antioxidative capability of the tomato (*Solanum lycopersicum*) skin constituents by capillary electrophoresis and high-performance liquid chromatography. *Electrophoresis*, 29(19), 3980–3988.
- Hernández-Hernández, E., Ponce-Alquicira, E., Jaramillo-Flores, M. E., & Legarreta, I. G.** (2009). Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters. *Meat Science*, 81(2), 410–417.
- Hill, S., Lamberson, C. R., Xu, L., To, R., Tsui, H. S., Shmanai, V. V., ... & Shchepinov, M. S.** (2012). Small amounts of isotope-reinforced polyunsaturated fatty acids suppress lipid autoxidation. *Free Radical Biology and Medicine*, 53(4), 893–906.
- Huang, X., & Ahn, D. U.** (2019). Lipid oxidation and its implications to meat quality and human health. *Food science and biotechnology*, 28(5), 1275–1285.
- Hygreeva, D., Pandey, M. C., & Radhakrishna, K.** (2014). Potential applications of plant based derivatives as fat replacers, antioxidants and antimicrobials in fresh and processed meat products. *Meat science*, 98(1), 47–57.
- ISO 936: 1998.** „Meat and meat products - Determination of total ash“
- Jiang, B., Tsao, R., Li, Y., & Miao, M.** (2014). Food Safety: Food Analysis Technologies/Techniques.
- Jiménez-Colmenero, F., Cofrades, S., Herrero, A. M., & Ruiz-Capillas, C.** (2018). Implications of domestic food practices for the presence of bioactive components in meats with special reference to meat-based functional foods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(14), 2334–2345.
- Juks, Marii, Heleen.** (2018). Sous vide meetodi rakendamise veiseliha töötlemisel. Magistritöö. Eesti Maaülikooli veterinaarmeditsiin ja loomakasvatus instituut. Tartu 83 lk.



- Kumar, Y., Yadav, D. N., Ahmad, T., & Narsaiah, K.** (2015). Recent trends in the use of natural antioxidants for meat and meat products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6), 796–812.
- Lindahl, G.** (2005). *Colour characteristics of fresh pork* (Vol. 2005, No. 2005: 43). *Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences. Department of Food Science*
- Longato, E., Lucas-González, R., Peiretti, P. G., Meineri, G., Pérez-Alvarez, J. A., Viuda-Martos, M., & Fernández-López, J.** (2017). The effect of natural ingredients (amaranth and pumpkin seeds) on the quality properties of chicken burgers. *Food and Bioprocess Technology*, 10(11), 2060–2068.
- Lorenzo, J. M., Pateiro, M., Domínguez, R., Barba, F. J., Putnik, P., Kovačević, D. B., ... & Franco, D.** (2018). Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. *Food Research International*, 106, 1095–1104
- Mancini, R. A., & Hunt, M.** (2005). Current research in meat color. *Meat science*, 71(1), 100–121.
- Margens, Kadi.** (2017). Nuumsigade selja pikima lihase tehnoloogiline kvaliteet ja koostis. Magistritöö. Eesti Maaülikooli veterinaarmeditsiin ja loomakasvatus instituut. Tartu. 62 lk.
- Menegali, B. S., Selani, M. M., Saldaña, E., Patinho, I., Diniz, J. P., Melo, P. S., ... & Contreras-Castillo, C. J.** (2020). Pink pepper extract as a natural antioxidant in chicken burger: Effects on oxidative stability and dynamic sensory profile using Temporal Dominance of Sensations. *LWT*, 121, 108986.
- Paunovic, S. M., & Maskovic, P.** (2018). Primary metabolites, vitamins and minerals in berry and leaf extracts of black currant (*Ribes nigrum* L.) under different soil management systems. *Comp Rend Acad Bulg Sci*, 71(2), 299–308.
- Pihlanto, A., Mattila, P., Mäkinen, S., & Pajari, A. M.** (2017). Bioactivities of alternative protein sources and their potential health benefits. *Food & function*, 8(10), 3443–3458.
- Pukalskas, A., van Beek, T. A., Venskutonis, R. P., Linssen, J. P., van Veldhuizen, A., & de Groot, A.** (2002). Identification of radical scavengers in sweet grass (*Hierochloa odorata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 2914–2919.
- Pikul, J., Dennis E. Leszczynski, Fread A. Kummerow.** (1989). Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 37:1309–1313.
- Pöldvere, A.** (2002). Noorkultide rümpade kvaliteedi hindamine. Tõuloomakasvatus nr. 13, 3, lk 20–22. [veebileht] <https://www.estpig.ee/artiklid/poldvere1.html> (04.04.2021)
- Püssa, T., Pällin, R., Raudsepp, P., Soidla, R., & Rei, M.** (2008). Inhibition of lipid oxidation and dynamics of polyphenol content in mechanically deboned meat supplemented with sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) berry residues. *Food Chemistry*, 107(2), 714–721.

- Raikos, V., Neacsu, M., Russell, W., & Duthie, G.** (2014). Comparative study of the functional properties of lupin, green pea, fava bean, hemp, and buckwheat flours as affected by pH. *Food science & nutrition*, 2(6), 802–810.
- Raudsepp, P., Anton, D., Roasto, M., Meremäe, K., Pedastsaar, P., Mäesaar, M., ... & Püssa, T.** (2013). The antioxidative and antimicrobial properties of the blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.), Siberian rhubarb (*Rheum rhaponticum* L.) and some other plants, compared to ascorbic acid and sodium nitrite. *Food control*, 31(1), 129–135.
- Raudsepp, P., Koskar, J., Anton, D., Meremäe, K., Kapp, K., Laurson, P. & Püssa, T.** (2019). Antibacterial and antioxidative properties of different parts of garden rhubarb, blackcurrant, chokeberry and blue honeysuckle. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(5), 2311–2320.
- Rei, M.** (1999). Lihatehnoloogia teaduslikud alused.
- Rei, M., Sannik, U.** (1999). Inglise-Eesti lihandusalaane seletav sõnaraamat
- Reddy, B. S.** (2018). *Diet, Nutrition and Cancer: A Critical Evaluation. Micronutrients, Nonnutritive Dietary Factors and cancers Volume II.* CRC Press.
- Sesc.** (k.p). Febrile carcasses in pig slaughterhouses. [veebileht] <http://www.cresa.cat/blogs/sesc/carns-febrils-en-canals-de-porci/?lang=en> (17.03.2021)
- Shah, M. A., Bosco, S. J. D., & Mir, S. A.** (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat science*, 98(1), 21–33.
- Sharma, O. P., & Bhat, T. K.** (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4), 1202–1205.
- Skenderidis, P., Lampakis, D., Giavasis, I., Leontopoulos, S., Petrotos, K., Hadjichristodoulou, C., & Tsakalof, A.** (2019). Chemical properties, fatty-acid composition, and antioxidant activity of goji berry (*Lycium barbarum* L. and *Lycium chinense* Mill.) fruits. *Antioxidants*, 8(3), 60.
- Szerman, N., Gonzalez, C. B., Sancho, A. M., Grigioni, G., Carduza, F., & Vaudagna, S. R.** (2007). Effect of whey protein concentrate and sodium chloride addition plus tumbling procedures on technological parameters, physical properties and visual appearance of sous vide cooked beef. *Meat Science*, 76(3), 463–473.
- Stat.** (2020). Lihatoodang, aasta. [veebileht] <https://vana.stat.ee/34216> (17.03.21)
- Starowicz, M., & Zieliński, H.** (2019). How maillard reaction influences sensorial properties (color, flavor and texture) of food products?. *Food Reviews International*, 35(8), 707–725.
- Zahid, M. A., Choi, J. Y., Seo, J. K., Parvin, R., Ko, J., & Yang, H. S.** (2020). Effects of clove extract on oxidative stability and sensory attributes in cooked beef patties at refrigerated storage. *Meat science*, 161, 107972.
- Zajac, M., Guzik, P., Kulawik, P., Tkaczewska, J., Florkiewicz, A., & Migdal, W.** (2019). The quality of pork loaves with the addition of hemp seeds, de-hulled hemp seeds, hemp protein and hemp flour. *LWT*, 105, 190–199.

- Zilmer, M.** (k.p). Kümme põhjust liha söömiseks. [veebileht] [https://www.toiduliit.ee/sealiha/kumme\\_pohjust\\_liha\\_soomiseks.html](https://www.toiduliit.ee/sealiha/kumme_pohjust_liha_soomiseks.html) (19.03.2021)
- Tamanna, N., & Mahmood, N.** (2015). Food processing and maillard reaction products: effect on human health and nutrition. *International journal of food science*, 2015.
- Tamkutė, L., Gil, B. M., Carballido, J. R., Pukalskienė, M., & Venskutonis, P. R.** (2019). Effect of cranberry pomace extracts isolated by pressurized ethanol and water on the inhibition of food pathogenic/spoilage bacteria and the quality of pork products. *Food research international*, 120, 38–51
- Tkacz, K., Modzelewska-Kapitula, M., Więk, A., & Nogalski, Z.** (2020). The Applicability of Total Color Difference  $\Delta E$  for Determining the Blooming Time in Longissimus Lumborum and Semimembranosus Muscles from Holstein-Friesian Bulls at Different Ageing Times. *Applied Sciences*, 10(22), 8215.
- Tornberg, E. V. A.** (2005). Effects of heat on meat proteins–Implications on structure and quality of meat products. *Meat science*, 70(3), 493–508.
- Tänavots, A.** (2021). Liha pH väärtus. Liha kvaliteet. [veebileht] [http://www.eau.ee/~alo/liha/kvaliteet/?Tehnoloogilised\\_n%C3%A4itajad/Liha\\_pH-v%C3%A4%C3%A4rtus](http://www.eau.ee/~alo/liha/kvaliteet/?Tehnoloogilised_n%C3%A4itajad/Liha_pH-v%C3%A4%C3%A4rtus) (17.03.2021)
- WHO.** (2015). Q&A on the carcinogenicity of the consumption of red meat and processed meat. [veebileht] <https://www.who.int/features/qa/cancer-red-meat/en/> (17.03.2021)
- Vuorela, S., Salminen, H., Mäkelä, M., Kivikari, R., Karonen, M., ja Heinonen, M.** (2005). Effect of plant phenolics on proteiin and lipid oxidation in cooked 75rot meat patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(22), 8492–8497.
- Xu, D., Wang, Y., Jiao, N., Qiu, K., Zhang, X., Wang, L., ... & Yin, J.** (2020). The coordination of dietary valine and isoleucine on water holding capacity, pH value and protein solubility of fresh meat in finishing pigs. *Meat science*, 163, 108074.
- X-Rite Pantone.** (k.p). [veebileht] <https://www.xrite.com/hue-test>
- Xu, Y., Li, J., Zhao, J., Wang, W., Griffin, J., Li, Y., ... & Wang, D.** (2021). Hempseed as a nutritious and healthy human food or animal feed source: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(2), 530–543.
- Young, O. A., Braggins, T. J., West, J., & Lane, G. A.** (1999). Animal production origins of some meat color and flavor attributes. *Quality attributes of muscle foods*, 11–29.

**LISAD**

## Lisa 1. Taimsete lisanditega sealihast pihvide degusteerimise protokoll

Kuupäev.....

Hinnatakse 9-palli süsteemis:

9 – ülihea;

4 – üsna halb;

8 – väga hea;

3 – halb;

7 – hea;

2 – väga halb;

6 – üsna hea;

1 – mitte rahuldav.

5 – rahuldav;

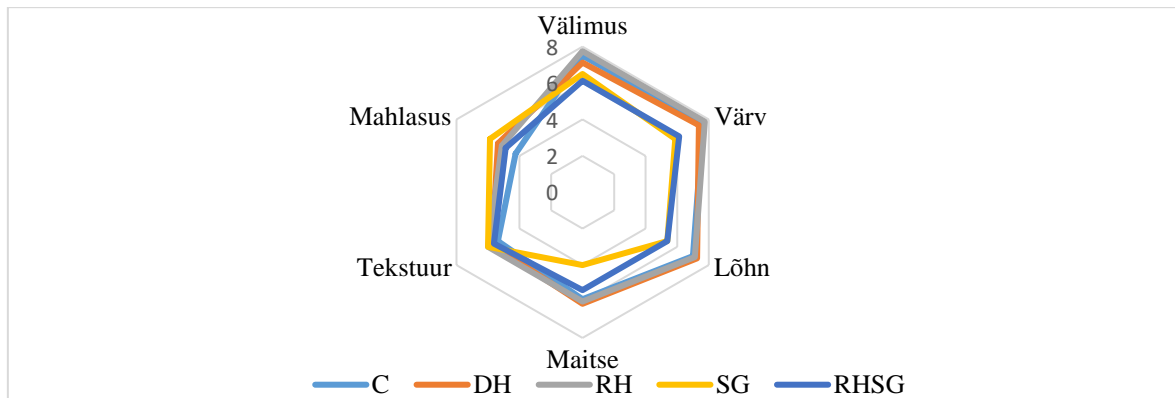
**Tabel 6.** Kuumtöödeltud pihvid

Proovi nr.	Hinnatavad omadused						Märkused
	Toote välimus	Värvus	Lõhn	Maitse	Tekstuur	Mahlasus	
1.							
2.							
3.							
4.							
5.							

**Tabel 7.** Toored pihvid

Proovi nr.	Hinnatavad omadused			Märkused
	Toote välimus	Värvus	Lõhn	
1.				
2.				
3.				
4.				
5.				

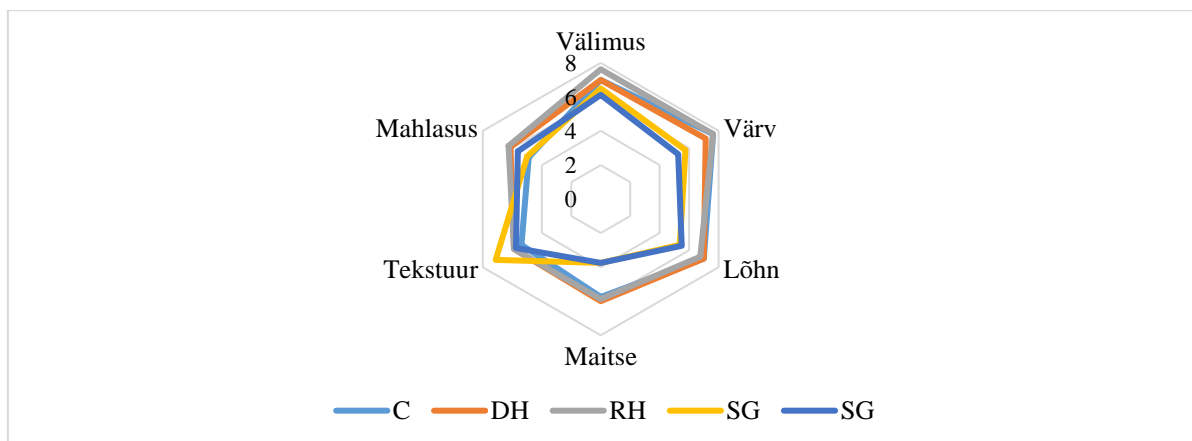
## Lisa 2. Sensoorsel hindamisel saadud tulemuste päevapõhised radardiagrammid



**Joonis 27.** Grillitud pihvide valmistamise päev ehk 0. päev

Märkused:

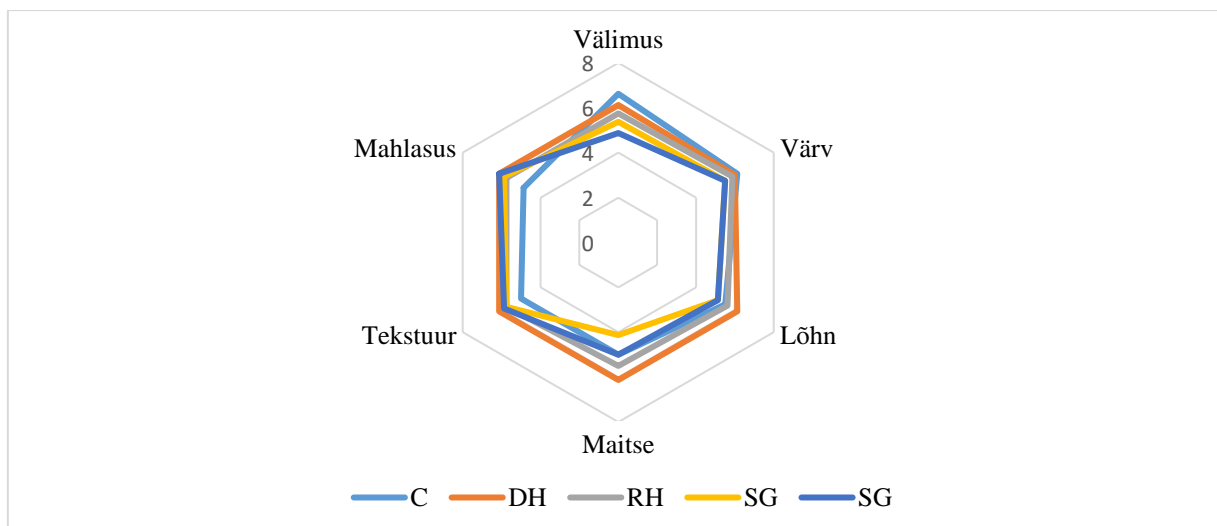
1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.



**Joonis 28.** Grillitud pihvide 4. päev

Märkused:

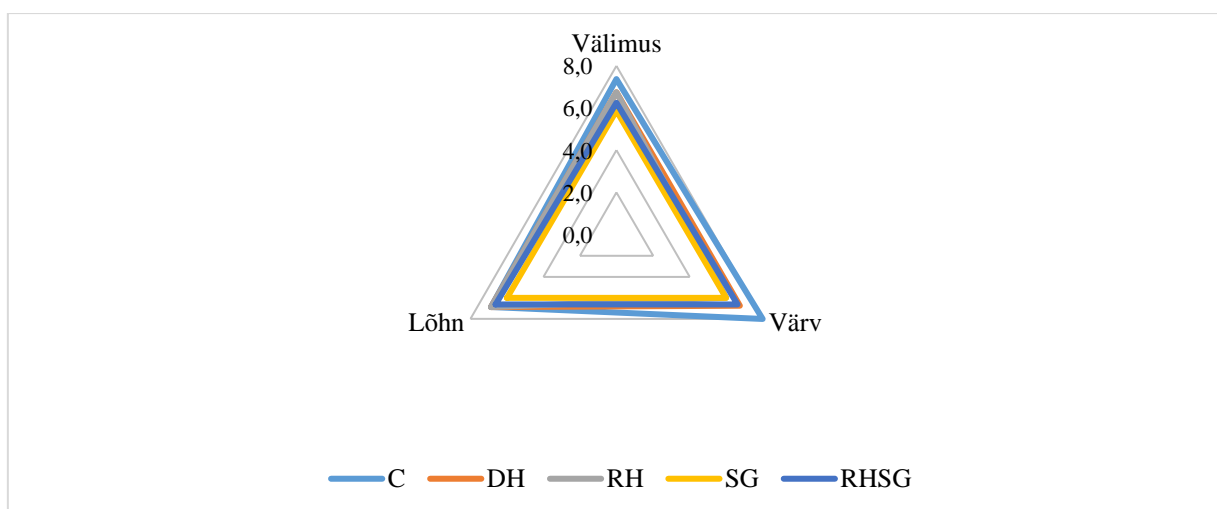
1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.



**Joonis 29.** Grillitud pihvide 8. päev

Märkused:

1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.

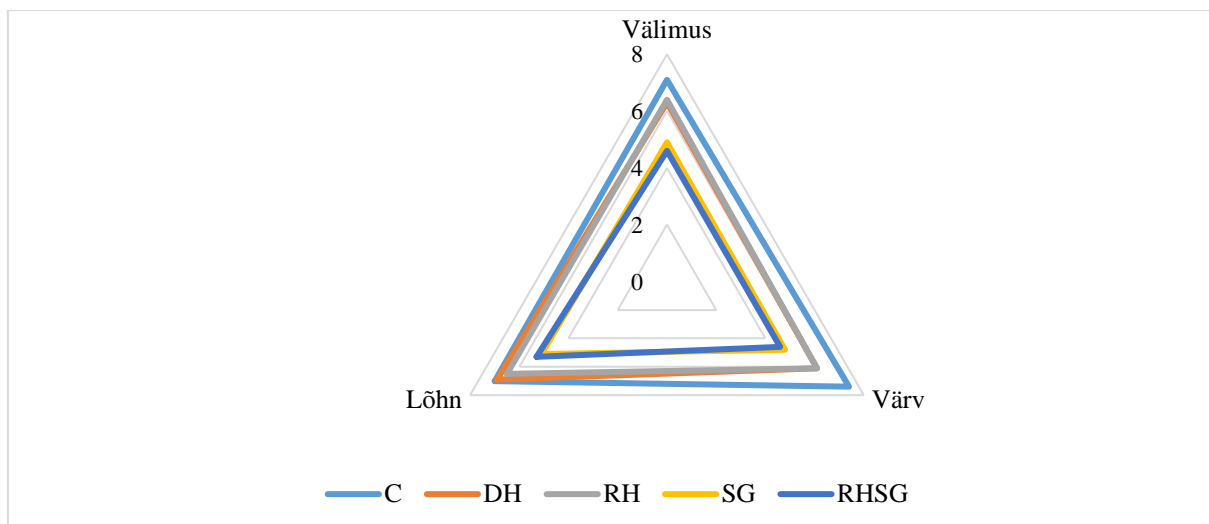


**Joonis 30.** Toorete pihvide valmistamise päev

Märkused:

1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.





**Joonis 31.** Toorete pihvide 4. päev

Märkused:

1. C – kontrollproov; DH – lisandiks rasvatustatud kanepiseemnejahu; RH – lisandiks kanepi toorproteiin; SG – harilik lõhnhein; RHSG – kanepi toorproteiini ja hariliku lõhnheina segu.

### **Lisa 3. Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendajate kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta**

Mina, Anet Post,

sünniaeg 24.10.1996,

1. annan Eesti Maaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda koostatud lõputöö Taimsete lisandite mõju sealihast pihvide kvaliteedile

mille juhendaja(d) on Kristi Kerner, Marek Tepper, Alo, Tänavots,

- 1.1. salvestamiseks säilitamise eesmärgil,
- 1.2. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja
- 1.3. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Lõputöö autor \_\_\_\_\_

*allkirjastatud digitaalselt*

Tartu, 24.05.2021

---

### **Juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta**

Luban lõputöö kaitsmisele.

Kristi Kerner\_\_\_\_\_

24.05.202

*allkirjastatud digitaalselt*

Alo Tänavots\_\_\_\_\_

24.05.2021

*allkirjastatud digitaalselt*

Marek Tepper\_\_\_\_\_

24.05.2021

*allkirjastatud digitaalselt*